COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
Ref. from binders
16 OCT 1956

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Appel-Berlin, Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller, z. Zt. Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. **G. Gassner** und Prof. Dr. **E. Gäumann**
Braunschweig Zürich

BAND 18

Mit 216 Abbildungen

1952

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG
Verlag für Landwirtschaft, Veterinärmedizin, Gartenbau und Forstwesen
BERLIN-WEST, LINDENSTRASSE 44-47

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

INHALTSVERZEICHNIS ZUM 18. BAND

Abhandlungen

Ammann, Alfred, Über die Bildung von Zellulase bei pathogenen Mikroorganismen. (Mit 6 Abbildungen) 416

Bercks, R., Weitere Untersuchungen zur Frage der Altersresistenz der Kartoffelpflanzen gegen das X-Virus 249

Biedermann, W. und Müller, E., Die Inaktivierung des gelösten Kupfers (II) in Fungiziden. (Mit 8 Abbildungen) 307

Björling, Karl, Über die Entwicklungsgeschichte, Variabilität und Pathogenität von *Sclerotinia trifoliorum* Erikss. (Mit 92 Abbildungen) 129

Blumer, S., Beiträge zur Kenntnis der Erysiphaceen. 2. Mitteilung. (Mit 3 Abbildungen) 101

Bruyn, Helena L. G. de, Pathogenic differentiation in *Phytophthora infestans* (Mont.) DeBary (With 4 figures) 339

Gäumann, Ernst, Kern, Heinz und Sauthoff, Walter, Untersuchungen über zwei Welketoxine. (Mit 8 Abbildungen) 404

Hassebrauk, K., Untersuchungen über die Einwirkung von Sulfonamiden und Sulfonen auf Getreideroste. II. Weitere Untersuchungen über die rosthemmende Wirkung 453

Kanngiesser, W., Polarographische und papierelektrophoretische Charakterisierung von Kartoffelproteinen in ihrer Beziehung zu Kartoffelvirosen. (Mit 9 Abbildungen) 447

Kobel, Fritz, Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. (Mit 13 Abbildungen) 157

Orsenigo, Mario, Contributi alla conoscenza del genere *Endothia*.
I. Analisi statistica delle dimensioni delle ascospore di alcune specie. (Mit 5 Abbildungen) 196

II. Indentificazione fra *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. ed *E. fluens* (Sow.) S. et S. e loro fusione in *E. radicalis* (Schw.) de Not. Considerazioni sulla patogenicità della specie e sulla classificazione del genere 210

Rümker, Rosmarie von, Über die Ökologie von *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* in der Rhizosphäre anfälliger und nicht anfälliger Pflanzen. (Mit 5 Abbildungen) 55

Schlösser, Ludwig-Arnold, Viröse Rübengelbsucht an Samenrüben. I. Die Bedeutung des Infektionszeitpunktes für Samenertrag und Samengüte 114

Siebs, E., Über die Schorfanfälligkeit von Birnen und die Aussichten auf ihre Resistenzzüchtung. (Mit 8 Abbildungen) 270

Stalder, Lukas, Über Dispositionsverschiebungen bei der Bildung von Wurzelknöllchen. (Mit 8 Abbildungen) 376

Stapp, C., Eine neue Infektionsmethode mit *Bacterium michiganense*, dem Erreger der bakteriellen Welkekrankheit der Tomaten. (Mit 1 Abbildung) 111

Stapp, C. und Freter, R., Untersuchung über die Wirkung von 2,4 D im Boden. I. Mitteilung: Eine verbesserte Nachweismethode und orientierende Versuche über die Haltbarkeitsdauer des Wuchsstoffs im Boden (Mit 3 Abbildungen) 365

Stoll, Karl, Über die Symptome der Pfeffingerkrankheit der Kirschbäume (Mit 7 Abbildungen) 293

Uschdraweit, H. A., Viruskrankheiten der Tomaten. (Mit 11 Abbildungen) 231

Winter, Gerhard, A., Untersuchungen über die Förderung der Jugendentwicklung der Hauptgetreidearten durch bodenbewohnende Pilze. (Mit 2 Abbildungen) 221

Zogg, Hans, Studien über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. (Mit 20 Abbildungen) 1

Zogg, Hans, Untersuchungen über Hagelschäden. III. Gerste. (Mit 2 Abbildungen) .. 287

Kurze Mitteilungen

Bortels, H., Fortgeführte Untersuchungen über die Beziehung zwischen Infektionserfolg und Wetterverlauf bei der Kartoffel-Naßfäule. Vorläufige Mitteilung. (Mit 1 Abbildung) 360

Besprechungen

Besprechungen 121, 246, 363, 461

INHALTSVERZEICHNIS

Heft 1

Abhandlungen

ZOGG, HANS, Studien über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. (Mit 20 Abbildungen) 1

RÜMKER, ROSMARIE VON, Über die Ökologie von *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* in der Rhizosphäre anfälliger und nicht anfälliger Pflanzen. (Mit 5 Abbildungen) 55

BLUMER, S., Beiträge zur Kenntnis der Erysiphaceen. 2. Mitteilung. (Mit 3 Abbildungen) 101

STAPP, C., Eine neue Infektionsmethode mit *Bacterium michiganense*, dem Erreger der bakteriellen Welkekrankheit der Tomaten. (Mit 1 Abbildung) 111

SCHLÖSSER, LUDWIG-ARNOLD, Viröse Rübengelbsucht an Samenrüben. I. Die Bedeutung des Infektionszeitpunktes für Samenertrag und Samengüte 114

Besprechungen 121

Heft 2

Abhandlungen

BJÖRLING, KARL, Über die Entwicklungsgeschichte, Variabilität und Pathogenität von *Sclerotinia trifoliorum* ERIKSS. (Mit 92 Abbildungen) 129

KOBEL, FRITZ, Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (TODE) Fr. (Mit 13 Abbildungen) 157

ORSENIGO, MARIO, Contributi alla conoscenza del genere *Endothia*.
I. Analisi statistica delle dimensioni delle ascospore di alcune specie. (Mit 5 Abbildungen) 196

II. Indentificazione fra *E. parasitica* (MURR.) P. J. et H. W. AND. ed *E. fluens* (SOW.) S. et S. e loro fusione in *E. radicalis* (SCHW.) DE NOT. Considerazioni sulla patogenicità della specie e sulla classificazione del genere. 210

WINTER, GERHARD, A., Untersuchungen über die Förderung der Jugendentwicklung der Hauptgetreidearten durch bodenbewohnende Pilze. (Mit 2 Abbildungen) 221

USCHDRAWEIT, H. A., Viruskrankheiten der Tomaten. (Mit 11 Abbildungen) 231

Besprechungen 246

Heft 3

Abhandlungen

BERCKS, R., Weitere Untersuchungen zur Frage der Altersresistenz der Kartoffelpflanzen gegen das X-Virus 249

SIEBS, E., Über [illegible]horfanfälligkeit von Birnen und die Aussichten auf ihre Resistenzzüchtung. (Mit 8 Abbildungen) 270

Zogg, Hans, Untersuchungen über Hagelschäden. III. Gerste. (Mit 2 Abbildungen) .. 287

Stoll, Karl, Über die Symptome der Pfeffingerkrankheit der Kirschbäume. (Mit 7 Abbildungen) 293

Biedermann, W. und Müller, E., Die Inaktivierung des gelösten Kupfers (II) in Fungiziden. (Mit 8 Abbildungen) 307

Bruyn, Helena L. G. de, Pathogenic differentiation in *Phytophthora infestans* (Mont.) DeBary (With 4 figures) 339

Kurze Mitteilungen

Bortels, H., Fortgeführte Untersuchungen über die Beziehung zwischen Infektionserfolg und Wetterverlauf bei der Kartoffel-Naßfäule. Vorläufige Mitteilung. (Mit 1 Abbildung) 360

Besprechungen 363

Heft 4

Abhandlungen

Stapp, C. und Freter, R., Untersuchung über die Wirkung von 2,4 D im Boden. I. Mitteilung: Eine verbesserte Nachweismethode und orientierende Versuche über die Haltbarkeitsdauer des Wuchsstoffs im Boden. (Mit 3 Abbildungen) .. 365

Stalder, Lukas, Über Dispositionsverschiebungen bei der Bildung von Wurzelknöllchen. (Mit 8 Abbildungen) 376

Gäumann, Ernst, Kern, Heinz und Sauthoff, Walter, Untersuchungen über zwei Welketoxine. (Mit 8 Abbildungen) 404

Ammann, Alfred, Über die Bildung von Zellulase bei pathogenen Mikroorganismen. (Mit 6 Abbildungen) 416

Kanngiesser, W., Polarographische und papierelektrophoretische Charakterisierung von Kartoffelproteinen in ihrer Beziehung zu Kartoffelvirosen. (Mit 9 Abbildungen) 447

Hassebrauk, K., Untersuchungen über die Einwirkung von Sulfonamiden und Sulfonen auf Getreideroste. II. Weitere Untersuchungen über die rosthemmende Wirkung 453

Besprechungen 461

Aus der Eidgenössischen Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon
Direktor: Dr. R. Koblet

Studien über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten

Von
Hans Zogg

Mit 20 Abbildungen

Eingegangen am 19. September 1950

Inhaltsübersicht: Einleitung und Problemstellung. — **A.** Die einzelnen Erreger und deren Pathogenität. — **B.** Die pathogene Wirkung verschiedener Erregergemische; I. Methodik; II. Die verschiedenen Reaktionstypen und das gegenseitige Verhalten der Pilze in vitro. — **C.** Der Einfluß des präinfektionellen Zusammenlebens der Erreger auf den Erfolg der Mischinfektion; I. Versuche mit einer Mehrzahl von verschiedenen Erregern; II. Versuche mit Erregerpaaren. — **D.** Untersuchungen über Primär- und Sekundärerkrankungen. — **E.** Untersuchungen über den Mechanismus der Mischinfektionen für die verschiedenen Reaktionstypen; I. Die stoffliche Beeinflussung der Infektiosität (Kulturfiltrate); II. Der zeitliche Verlauf der Erkrankung durch Erregergemische; III. Der Einfluß der Temperatur auf den Grad des Befalles durch Erregergemische; IV. Das Verhalten von Erregergemischen auf verschiedenen Wirtspflanzen. — Zusammenfassung. — Summary. — Zitierte Literatur.

Einleitung und Problemstellung

Die Fußkrankheiten des Getreides stellen eine komplexe Krankheitsgruppe dar, deren Erreger die Wurzeln und die Halmbasis besonders unserer Getreidearten, aber auch der Gräser vom Boden her befallen. Als besonders anfällig gelten in unseren Gegenden der Weizen und das Korn; die Gerste wird etwas weniger stark befallen, der Roggen noch weniger und der Hafer praktisch nicht. *Agropyron repens* (L.) Pal. z. B. wird stark befallen und kann als gefährlicher Überträger von Fußkrankheitserregern funktionieren. Über den Wirtskreis einiger Fußkrankheitserreger enthalten u. a. folgende Publikationen Angaben: Brittlebank (1919), Waters (1920), Kirby (1922, 1925), Guyot (1924), Rosen und Elliott (1923), Puterill (1924), Samuel (1923, 1924, 1925), Sanford (1926), Fraser, Simmonds und Russel (1926), van de Laar (1931), Padwick und Henry (1933), Sprague und Fellows (1934), Foëx und Rosella (1934), Foëx (1935), Oort (1936), Garrett (1941), Défago (1942), Butler (1948) usw.

Als wichtigste Erreger werden *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Cercosporella herpotrichoides* Fron. angesehen. Daneben ist eine ganze Reihe anderer, stark bis schwach pathogener Parasiten bekannt geworden, was z. B. Sprague (1935) veranlaßt hat, drei Gruppen von Erregern hinsichtlich ihrer Pathogenität aufzustellen: Aktive Parasiten (*O. graminis* und *C. herpotrichoides*), schwache Parasiten (*Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. und *Leptosphaeria herpotrichoides* de Not.), sehr schwache Parasiten (*Wojnowicia graminis* [McAlp.] Sacc.).

Je nach der Art des Bodens treten die Fußkrankheiten stärker oder schwächer auf (Literaturzusammenstellung siehe Garrett 1944). Sie lassen sich jedoch in allen Fällen mittels eines geeigneten Fruchtwechsels mit bestem Erfolg bekämpfen, da sie einem Milieu — dem Boden — entspringen, das ihnen wegen der mannigfaltigen mikrobiologischen Einflüsse seitens des Edaphons, des Entzuges des Nährsubstrates (Stoppeln usw.) besonders in ihrer saprophytischen Phase zum Verhängnis werden kann. So bedeuten vor allem die Untersuchungen von Lal (1939) und Sanford und Cormack (1940) wichtige Beiträge zur Kenntnis der Frage der antagonistischen Beeinflussung der Pathogenität von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Helminthosporium sativum* P. K. et B. durch bodenbewohnende Saprophyten wie z. B. *Actinomyceten-*, *Trichoderma-*, *Absidia-*, *Aspergillus-*, *Penicillium-* oder *Mucor*-Arten. Dem Problem der Wurzelausscheidungen, das in engem Zusammenhange mit demjenigen der Rhizosphäre steht und bei der biologischen Bodenentseuchung eine besondere Rolle spielt, widmen sich beispielsweise die Arbeiten von Lochhead, Timonin und West (1940), Timonin (1940a und b, 1941) und anderen Autoren (Sammelreferat siehe Ettlinger 1946). In der neuesten Zeit hat Winter (1948, 1949) die Frage der Durchdringung der Rhizosphäre besonders für *Ophiobolus graminis* Sacc. studiert. — Dieses Zusammenspiel der Mikroorganismen im Boden ist bereits 1917 von Waksman in den großen Linien erkannt worden. Der Gedanke der „soil inhabiting" und „soil invading fungi" wurde später von Garrett (1938) auf die Fußkrankheitserreger des Getreides übertragen, die auf alle erwähnten Faktoren besonders empfindlich ansprechen. Die Gestaltung der modernen Fruchtfolge basiert denn auch auf diesen Erkenntnissen.

Bei gutem Fruchtwechsel sind die Erträge mit 100% einzusetzen. Wenn mehrere Jahre hintereinander Weizen (oder Gerste) angebaut wird, so können die Ertragsausfälle bis auf 90% ansteigen. In den Berglagen unserer Gebiete beschränkt sich der Ackerbau nur auf einige bestimmte Äcker, auf denen wegen ihrer Lage an den steilen Berghängen aus klimatischen und technischen Gründen nur in den seltensten Fällen ein geeigneter Fruchtwechsel getrieben werden kann. Zum Beispiel in Lü (Kt. Graubünden, Münstertal) wird auf 1900 m ü. M. Sommergerste mit gutem Erfolg angebaut. Dabei gelangt folgender „Fruchtwechsel" zur Durchführung: 2 Jahre Gerste, 1 Jahr Kartoffeln, 2 Jahre Gerste, 1 Jahr Kartoffeln usw., oder: Gerste und Kartoffeln abwechslungsweise. Die Sommergerste (*Hordeum distichon* L.) wird zur Selbstversorgung auf den gleichen Terrassenäckern seit Jahrhunderten angebaut. Die Erträge dürften hier unter Voraussetzung normaler Düngung, Witterung usw. schätzungsweise 80% einer Normalernte bei gutem Fruchtwechsel erreichen. Ähnliche Resultate sind aus England (Rothamsted) bekanntgeworden (Gilbert 1895; Anonymus 1918). Auch in unseren, eigens hierfür eingerichteten Versuchsparzellen mit ständigem Getreidebau konnten schon nach 8 Jahren von neuem Weizen- und Gerstenerträge geerntet werden, die gegenüber einer Normalernte ungefähr 50—60% betrugen.

Diese empirisch festgestellten Erträge fügen sich (als Arbeitshypothese gedacht) zu einer Kurve mit drei Abschnitten zusammen (Abb. 1): Abschnitt I: Guter Fruchtwechsel; Ertrag 100%. Abschnitt II: Schlechter Fruchtwechsel

(mehrere Jahre anfällige Getreidearten hintereinander angebaut); Ertrag z. B. 10%. Abschnitt III: Ständiger Getreidebau (Berglagen); Ertrag schätzungsweise 80%.

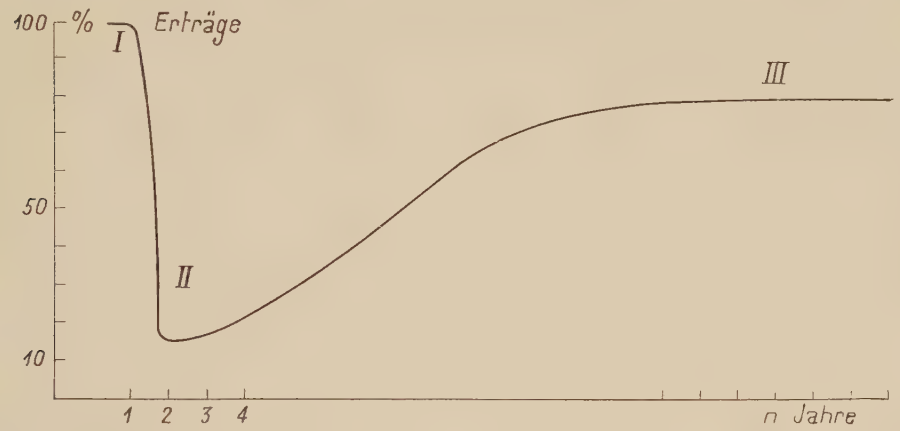


Abb. 1. Hypothetische Ertragskurve bei fortwährendem Anbau anfälliger Getreidearten. Abschnitt I: Guter Fruchtwechsel. Abschnitt II: Schlechter Fruchtwechsel. Abschnitt III: Ständiger Getreidebau (z. B. in Berglagen). Abszisse: Jahre; Ordinate: Erträge in Prozent einer Normalernte

Der Anstieg der Ertragskurve von Abschnitt II zu Abschnitt III, der irgendwann, nach einer Reihe von Jahren erfolgt, stellt nichts anderes dar als das Abklingen einer Epidemie. Wegen der Anreicherung von Getreidestoppeln und -wurzelteilen im Boden kann eine spezifische, qualitative und quantitative Änderung der Bodenlebewelt eintreten, die in ihrer Zusammensetzung mit der Zeit konstant wird. Dabei ist auch an eine wachsende Durchseuchung der Getreideäcker durch Fußkrankheitserreger zu denken. Tatsächlich lassen sich alle möglichen stark bis schwach pathogenen Fußkrankheitserreger aus den Stoppelresten solcher Äcker isolieren. Es ist dementsprechend anzunehmen, daß die Mischinfektionen eine nicht zu unterschätzende Bedeutung erlangen. Über das Problem der Mischinfektionen liegen nur wenige Untersuchungen vor. Gäumann (1945) gibt einige Beispiele hierfür. Aus der Literatur über die Fußkrankheiten des Getreides ist mir nur die Arbeit von Broadfoot (1933 a) bekanntgeworden, der einige Erreger im Mischinfektionsversuch prüfte. Dagegen haben verschiedene Autoren, z. B. McKinney und Johnson (1921), Guyot (1925), Carne (1927), Kerleroux (1930), Broadfoot (1930 b), Foëx und Rosella (1933), Sprague (1935), Garrett (1942), Detroux (1946) usw. das spontane Vorkommen verschiedener Fußkrankheitserreger auf denselben Stoppeln erwähnt.

Die vorliegende Arbeit versucht, folgende, mit dem Problem der Mischinfektionen zusammenhängende Fragen zu erörtern:

1. Welche Reaktionstypen können bei der Erkrankung durch Erregergemische auftreten?
2. Welchen Einfluß übt das präinfektionelle Zusammenleben der Erreger auf die Pathogenität des Gemisches aus?

3. Wie verhalten sich die verschiedenen Erreger bei zeitlich gestaffelter Infektion (Primär- und Sekundärinfektion)?
4. Auf welche Art beeinflussen sich die einzelnen Erreger gegenseitig?
5. Wie gestaltet sich die Erkrankung durch Erregergemische in Abhängigkeit von Zeit und Temperatur?
6. Wie verlaufen die Infektion und die Erkrankung durch Erregergemische auf verschiedenen Wirtspflanzen?

A. Die einzelnen Erreger und deren Pathogenität

Die Getreidestoppeln, von denen die Pilze isoliert wurden, stammen hauptsächlich aus Feldern mit ausgesprochen schlechter Fruchtfolge, insbesondere aus unseren, eigens für diese Zwecke angelegten Getreideparzellen und aus verschiedenen Gebirgsäckern, auf welchen notgedrungen kein eigentlicher Fruchtwechsel getrieben werden kann. — Die Angaben über die Pathogenität der einzelnen Erreger beziehen sich nur auf den Befall junger Weizenpflanzen.

1. *Ophiobolus graminis* Sacc. Holm (1948) hat festgestellt, daß der Erreger der sogenannten Schwarzbeinigkeit oder Weißährigkeit zu Unrecht der Gattung *Ophiobolus* einverleibt wurde. Der Pilz gehört eher in die Familie der *Gnomoniaceae*, in die Nähe der Gattung *Plagiosphaera* Petr., welche auf Grund der Gattung *Ophiobolus moravicus* aufgestellt wurde. — Fundorte: a) Auf Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 11. 8. 44, leg.! Stamm 234: stark pathogen, verbreitet in der ganzen Schweiz. — b) Auf Stoppeln von *Triticum spelta* L., Kt. Zug, Menzingen, 7. 6. 48, leg.! Stamm 573: stark pathogen, verbreitet in der ganzen Schweiz. — c) Auf vorjährigen Stoppeln von *Hordeum vulgare* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller. — d) Auf vorjährigen Stoppeln von *Hordeum distichon* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.— e) Auf vorjährigen Stoppeln von *Secale cereale* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.— f) Auf vorjährigen Stoppeln von *Avena sativa* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller. — g) Auf Ausläufern von *Agropyron repens* (L.) Pal., Kt. Zug, Menzingen, 7. 6. 1948, leg.!
2. *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. Dieser Pilz wird in unseren Gegenden weniger häufig angetroffen als *Ophiobolus graminis* Sacc. Die morphologischen Eigenheiten sind besonders von Défago (1942) dargestellt worden. — Fundorte: a) Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller; Stamm 745: mittelstark pathogen. — b) Auf vorjährigen Stoppeln von *Secale cereale* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller; Stamm 695: mittelstark pathogen.

   Sämtliche hier angeführten *Leptosphaeria*-Arten sind in der systematischen Arbeit von E. Müller (1950) enthalten. Die Pilze wurden von E. Müller bestimmt. Allgemein zeigte sich, daß die gefundenen und geprüften *Leptosphaeria*-Arten nicht zu den stark pathogenen Parasiten gehören.

3. *Leptosphaeria linearis* (Sacc.) E. Mül. Fundort: Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Kt. Graubünden, Schuls, 17.7.48 leg.! Stamm 620: mittelstark pathogen, Stamm 628: schwach pathogen.
4. *Leptosphaeria herpotrichoides* de Not. Fundort: Auf vorjährigen Stoppeln von *Secale cereale* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller; Stamm 718: mittelstark pathogen.
5. *Leptosphaeria nigrans* (Desm.) Ces. et de Not. Fundort: Auf vorjährigen Stoppeln von *Hordeum distichon* L., Kt. Graubünden, Zernez, 14.7.48, leg.!; Stamm 606: mittelstark pathogen.
6. *Leptosphaeria recutita* (Fuck.) E. Mül. Fundorte: a) Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Kt. Graubünden, Schuls, 17.7.48, leg.! Stamm 632: schwach — mittelstark pathogen. — b) Auf vorjährigen Stoppeln von *Hordeum distichon* L., Kt. Graubünden, Zernez! 14.7.48, leg.!
7. *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. Fundorte: Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Kt. Graubünden, Schuls, 17. 7. 48, leg.!; Stamm 624: mittelstark pathogen, Stamm 622: schwach pathogen; Zürich-Affoltern, Reckenholz, 16.5.49, leg.! und E. Müller.
8. *Leptosphaeria clavata* Guyot. Fundorte: a) Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28.3.49, leg.! und E. Müller; Stamm 727: schwach pathogen. — b) Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum spelta* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28.3.49, leg.! und E. Müller. — c) Auf vorjährigen Stoppeln von *Secale cereale* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller; Stamm 725: schwach pathogen. — d) Auf vorjährigen Stoppeln von *Avena sativa* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.

Die folgenden drei Arten der Gattungen *Pleospora* und *Pyrenophora* sind von E. Müller bestimmt worden und bilden Gegenstand weiterer, systematischer Untersuchungen.

9. *Pleospora infectoria* Fuck. Fundorte: a) Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller; Stamm 709: apathogen. — b) Auf vorjährigen Stoppeln von *Hordeum vulgare* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28.3.49, leg.! und E. Müller; Stamm 716: schwach pathogen. — c) Auf vorjährigen Stoppeln von *Hordeum distichon* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller; Stamm 713: schwach pathogen. — d) Auf vorjährigen Stoppeln von *Secale cereale* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller; Stamm 693: schwach pathogen. — e) Auf vorjährigen Stoppeln von *Avena sativa* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.
10. *Pleospora scrophulariae* (Desm.) v. Höhn. Fundort: Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28.3.49, leg.! und E. Müller.
11. *Pyrenophora trichostoma* (Fr.) Fuck. Fundorte: a) Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller. — b) Auf vorjährigen Stoppeln von

Triticum spelta L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller. — c) Auf vorjährigen Stoppeln von *Hordeum vulgare* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller. — d) Auf vorjährigen Stoppeln von *Secale cereale* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller; Stamm 694: schwach pathogen. — e) Auf vorjährigen Stoppeln von *Avena sativa* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.

Verschiedene Fusarien sind als Keimlings- und Fußkrankheitserreger des Getreides hauptsächlich in den Arbeiten von Tanja (1933), Anliker (1935), de Haan (1937) und Dófago (1942) behandelt worden. Die meisten der hier angeführten *Fusarium*-Arten wurden aus Stoppeln und Halmteilen herausisoliert. Die Bestimmung erfolgte zur Hauptsache nach Wollenweber und Reinking (1935) und Wollenweber (1943); sie wurde vornehmlich unter Mithilfe von E. Müller durchgeführt.

12. *Calonectria graminicola* (Berk. et Brme.) Wr. = *Fusarium nivale* (Fr.) Ces. Fundort: Auf vorjährigen Stoppeln von *Secale cereale* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller; Stamm 758: stark pathogen.
13. *Fusarium sp.* Gruppe *Sporotrichiella* Wr. Fundort: Aus Ackerboden, Kt. Graubünden, Lü (Münstertal), 24. 8. 48, leg.! Stamm 646: mittelstark pathogen.
14. *Fusarium tricinctum* (Cda.) Sacc. Fundorte: Auf noch stehenden Halmen von *Triticum vulgare* Vill., Kt. Schaffhausen, Gennersbrunn, 10. 8. 46, leg.! Stamm 378: mittelstark pathogen; Kt. St. Gallen, Grabs, 21. 6. 47, leg.!
15. *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. = *Fusarium graminearum* Schwabe. Fundort: Aus Torfmull, leg. Inst. f. spez. Bot. E. T. H. Stamm 691: schwach pathogen.
16. *Fusarium scirpi* Lamb. et Fautr. Fundort: Vorjährige Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Kt. Graubünden, Schuls, 26. 7. 44, leg.!; Stamm 681: mittelstark pathogen.
17. *Gibberella pulicaris* (Fr.) Sacc. = *Fusarium sambucinum* Fuck. Fundorte: a) aus Halmen von *Secale cereale* L., leg. Inst. f. spez. Bot. E. T. H.; Stamm 689: apathogen. — b) Aus Erde, Kt. Wallis, Gabi, leg. Inst. f. spez. Bot. E. T. H.; Stamm 692: schwach pathogen. — c) leg. Inst. f. spez. Bot. E. T. H. Stamm 685: schwach pathogen.
18. *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. Fundorte: a) auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller; Stamm 172: stark pathogen, Stamm 180: stark pathogen. — b) Auf Stoppeln von *Triticum spelta* L., Kt. Glarus, Buchenholz, 14. 6. 46, leg.!; Stamm 164: stark pathogen: Kt. Zürich, Stäfa, 14. 6. 47, leg.!; Kt. Wallis, leg. Ch. A. Terrier; Stamm 686: stark pathogen.
19. *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. *v. cereale* (Cke.) Wr. Fundorte: a) Auf noch stehenden Halmen von *Triticum vulgare* Vill., Kt. Schaffhausen, Thayngen-Herblingen, 10. 8. 46, leg.!; Stamm 384: mittel-

stark pathogen. — b) Auf noch stehenden Halmen von *Hordeum distichon* L., Kt. Schaffhausen, Herblingen, 10. 8. 46, leg.!

20. *Fusarium orthoceras* App. et. Wr. *v. longius* (Sherb.) Wr. Fundort: Aus Erde, Kt. Wallis, leg. Inst. f. spez. Bot. E. T. H.; Stamm 688: apathogen.
21. *Fusarium oxysporum* Schlecht. Fundort: Auf vorjährigen Stoppeln von *Secale cereale* L., Kt. Graubünden, Remüs, 27. 4. 44, leg.! Stamm 682: mittelstark pathogen. Stamm 683: mittelstark pathogen.
22. *Fusarium oxysporum* Schlecht. *v. aurantiacum* (Lk. ut sp.) Wr. Fundort: Aus vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 19. 8. 44, leg.! Stamm 684: mittelstark pathogen.
23. *Fusarium solani* (Mart.) App. et Wr. *v. minus* Wr. Fundort: Aus Ackerboden, Kt. Graubünden, Lü (Münstertal), 24. 8. 48, leg.! Stamm 644: stark pathogen.
24. *Wojnowicia graminis* (McAlp.) Sacc. Dieser Pilz ist auf Getreidestoppeln weit verbreitet. Ganz allgemein gilt er als Schwächeparasit besonders auf Winterweizen und tritt z. B. nach van de Laar (1931) und Foëx und Rosella (1932) häufig im Gefolge von *Ophiobolus graminis* Sacc. oder *Cercosporella herpotrichoides* Fron. auf. Saccardo (Syll. 10, 1892) trennte die Gattung *Wojnowicia* wegen der Behaarung der Pyknidien von *Hendersonia* Berk. (Allescher, 1903) ab. Wie aber schon Sprague (1935) zeigte, ist eine solche Abtrennung revisionsbedürftig, doch konnten bis jetzt noch keine diesbezüglichen systematischen Nachuntersuchungen durchgeführt werden.

Dieser Pilz wurde auf den Stoppeln verschiedener Getreidearten gesammelt. Mit gutem Gewissen ließen sich bei der Untersuchung des Materials keine morphologischen Unterschiede feststellen, da auf denselben Stoppeln stark oder schwach oder nicht behaarte Pyknidien gefunden wurden. Die Größe der Konidien schwankt beträchtlich. Auch ist ihre Gestalt nicht streng fixiert, so daß auch die früher erwähnte *Hendersonia secalina* Died. vorläufig besser zu *W. graminis* gestellt wird (Zogg 1949). Es scheint, daß — in Übereinstimmung mit Sprague (1935) — verschiedene, physiologische Formen existieren, wie es sich aus dem Verhalten der verschiedenen Stämme in Kultur und im Infektionsversuch ergab. Die in der Tabelle 1 aufgeführten Sporengrößen mögen ein Bild von den Grenzen der Variabilität dieser Art geben. — Fundorte: a) Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller; Stamm 699: mittelstark pathogen; Kt. Graubünden, Schuls, 17. 7. 48, leg.!; Stamm 625: schwach pathogen; Stamm 626: schwach pathogen; Stamm 630: schwach pathogen. — b) Auf vorjährigen Stoppeln von *Hordeum distichon* L., Kt. Graubünden, Lü (Münstertal), 16. 7. 48, leg.! Stamm 618: mittelstark pathogen; Kt. Graubünden, Zernez, 14. 7. 1948, leg.!; Stamm 608: mittelstark pathogen; Stamm 605: schwach pathogen. — c) Auf vorjährigen Stoppeln von *Secale cereale* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.

Tabelle 1
Sporengrößen verschiedener Stämme von *Wojnowicia graminis* (McAlp.) Sacc.

Wirt	Fundort	Sporenlänge		Sporenbreite	
		Mittelwert und Streuung	Häufigste Werte und Extremwerte	Mittelwert und Streuung	Häufigste Werte und Extremwerte
Triticum vulgare Vill.	Zürich	28,6 µ ± 2,24	(24)26–31(35) µ	3,4 µ ± 0,44	3–5 µ
„ „	„	31,0 µ ± 1,98	(24)26–33(36) µ	3,5 µ ± 0,50	3–5 µ
„ „	Schuls	28,7 µ ± 2,46	(23)25–33(35) µ	3,4 µ ± 0,49	3–5 µ
„ „	„	29,0 µ ± 2,94	(23)25–33(35) µ	3,4 µ ± 0,22	3–5 µ
„ „	„	29,4 µ ± 3,19	(18)25–33(38) µ	3,3 µ ± 0,01	3–4(5) µ
Hordeum distichon L.	Lü	38,0 µ ± 2,33	(31)33–39(41) µ	4,5 µ ± 0,74	3–5(7) µ
„ „	Zernez	25,8 µ ± 1,77	(20)23–28(30) µ	3,3 µ ± 0,26	3–5 µ
„ „	„	29,4 µ ± 2,38	(24)26–33(36) µ	4,6 µ ± 0,73	3–5(7) µ
„ „	„	30,7 µ ± 2,88	(23)28–33(38) µ	3,7 µ ± 0,70	3–5 µ
„ „	„	33,5 µ ± 1,76	(29)31–36(38) µ	3,3 µ ± 0,26	(2)3–5 µ
Secale cereale L.	Zürich	32,6 µ ± 2,04	(24)29–35(40) µ	3,7 µ ± 0,77	3–5 µ

25. *Hendersonia aberrans* Petr. Der Pilz wurde in freundlicher Weise von Herrn Prof. Dr. F. Petrak bestimmt. *H. aberrans* dürfte als Nebenfruchtform von *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. in Frage kommen. Sowohl im Reckenholz (Zürich) als auch in Lü (Münstertal, Kt. Graubünden) wurden die beiden Pilze auf derselben Stoppel dicht nebeneinander gefunden. Insbesondere zeigte das Material von Lü, daß die Kulturen der beiden Pilze morphologisch nicht voneinander unterscheidbar waren, und daß auch der Krankheitsgrad bei den Infektionsversuchen auf Weizen die gleiche Größe erreichte. Allerdings konnten bis heute weder in Kultur noch auf infizierten Wirtspflanzen Haupt- oder Nebenfruchtformen gefunden werden, so daß eine eindeutige Abklärung dieser Frage noch aussteht. Petrak (1927, S. 318) hat *Hendersonia aberrans* ebenfalls in Gesellschaft einer *Leptosphaeria* gefunden. Auch bei dieser Art schwanken die Sporengrößen beträchtlich (Tabelle 2). — Fundorte: a) Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller; Stamm 751: mittelstark pathogen. — b) Auf vorjährigen Stoppeln von *Avena sativa* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.

Tabelle 2
Sporengrößen verschiedener Stämme von *Hendersonia aberrans* Petr.

Wirt	Fundort	Sporenlänge		Sporenbreite	
		Mittelwert und Streuung	Häufigste Werte und Extremwerte	Mittelwert und Streuung	Häufigste Werte und Extremwerte
Triticum vulgare Vill.	Zürich	21,0 µ ± 2,29	(16)20–24(25) µ	1,9 µ ± 0,60	(1)2–3(4) µ
„ „	„	22,8 µ ± 2,17	(16)20–26(28) µ	2,9 µ ± 0,69	2–3 µ
„ „	Schuls	25,8 µ ± 2,95	(19)21–30(33) µ	3,3 µ ± 0,23	2–3(4) µ
Avena sativa L. . . .	Zürich	21,5 µ ± 1,26	(16)18–25(27) µ	2,0 µ ± 0,78	2–3 µ

26. *Ascochyta graminicola* Sacc. Fundort: Auf dürren Blattscheiden von *Triticum vulgare* Vill., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 10. 6. 49, leg. E. Müller; Stamm 761: schwach pathogen.
27. *Helminthosporium gramineum* Rabh. Auf überwinterten Stoppeln von Gerste wurden sklerotienähnliche Körper gefunden, die mit Konidienträgern dicht besetzt waren. Die an den Trägern abgeschnürten Konidien waren in Gestalt und Größe dem *H. gramineum* sehr ähnlich. Auf den mit diesem Pilz infizierten Weizenpflanzen entstanden nur spärlich mehr oder weniger kurze Konidienträger mit denselben Konidien, so daß der Pilz mit dem in den Arbeiten von Kirchner (1891), Ravn (1901), Drechsler (1923, 1934) und Christensen und Graham (1934) beschriebenen *Helminthosporium gramineum* Rabh. ohne weiteres identifiziert werden konnte. Wahrscheinlich handelt es sich bei den im Freiland gefundenen Sklerotien um steril gebliebene Fruchtkörperstromata der dazugehörenden Ascusfruchtform, wie sie auch von Drechsler (1923) beobachtet worden sind. In Kultur, besonders auf Malzagar, bildeten sich dieselben schwarzen, sklerotienartigen Körper (jedoch ohne Konidien) und koremienartige, weißliche oder dunkelgefärbte, bis 1 cm hohe, einfache oder gegabelte Myzelzapfen. — Fundort: Auf vorjährigen Stoppeln von *Hordeum distichon* L., Kt. Graubünden, Lü (Münstertal), 16. 7. 48, leg.! Stamm 615: mittelstark pathogen.
28. *Coniosporium arundinis* (Cda.) Sacc. Fundort: Aus noch stehenden Halmen von *Triticum vulgare* Vill., Kt. Schaffhausen, Thayngen, 10. 8. 46 leg.! Stamm 368: schwach pathogen.
29. *Torula graminis* Desm. Die Exemplare wurden von Herrn Dr. F. Petrak bestimmt. — Fundorte: a) Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller. — b) Auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum spelta* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller. — c) Auf vorjährigen Stoppeln von *Hordeum distichon* L., Kt. Graubünden, Zernez, 14. 7. 48, leg.!; Stamm 610: mittelstark pathogen; Kt. Graubünden, Lü (Münstertal), 16. 7. 48, leg.! Stamm 619: schwach pathogen. — d) Auf vorjährigen Stoppeln von *Secale cereale* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.
30. *Alternaria humicola* Oudem. Der Pilz wurde von E. Müller bestimmt. — Fundorte: a) Aus Wurzeln von *Triticum spelta* L., Kt. Glarus, Buchenholz, 14. 6. 46, leg.! Stamm 193: schwach pathogen. — b) Aus verschiedenen Böden, verbreitet.

Es wurden verschiedene andere Pilze gefunden, die, ohne sie in den Versuchen verwendet zu haben, der Vollständigkeit halber zitiert werden sollen:

31. *Lophodermium tritici* (Roum.) Tehon auf vorjährigen Stoppeln von *Secale cereale* L. Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.
32. *Calonectria graminicola* (Berk. et Brme.) Wr. als Hauptfruchtform auf vorjährigen Stoppeln von *Hordeum distichon* L., Kt. Graubünden, Lü (Münstertal), 28. 4. 1948, leg.!

33. *Acrospermum compressum* Tode *v. graminum* Lib. auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill. und *T. spelta* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.
34. *Hendersonia mollis* Grove auf vorjährigen Stoppeln von *Secale cereale* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller, det. F. Petrak
35. *Hendersonia culmifraga* Fautr. auf vorjährigen Stoppeln von *Avena sativa* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller, det. F. Petrak.
36. *Rhabdospora spp.* auf vorjährigen Stoppeln von *Triticum vulgare* Vill., *T. spelta* L. und *Arena sativa* L. Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.
37. *Cercosporella herpotrichoides* Fron. besonders auf *Triticum vulgare* Vill., häufig.
38. *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* von verschiedenen Stoppeln.
39. *Mycelia sterilia* von verschiedenen Stoppeln.

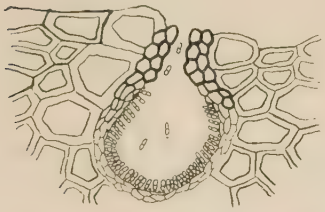


Abb. 2. Querschnitt durch eine Pyknidie von *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt. Vergrößerung etwa 250mal (Original E. Müller)

Daneben erwiesen sich drei Erreger als neue Imperfekten, deren systematische Bearbeitung von Herrn Dr. E. Müller übernommen wurde. Er erlaubte mir, seine diesbezüglichen Beschreibungen, lateinischen Diagnosen und Abbildungen an dieser Stelle zu publizieren:

***Diplodina speltae nov. spec.* (E. Mül. in litt.)**

Pycnidia plus minusve dispersa, subepidermalia, globosa, compressa vel irregulariter formata, 50—90 μ diam. Ostiolum cum parietibus crassissimis epidermalia perrumpens, conicum vel hemisphaericum. Paries pycnidiorum 7—15 μ crassus e cellulis tenuibus, leviter flavis constructus. Conidiophora brevia, parvas hyalinias bullas formantia. Conidia cylindracea, saepe leviter curvula, medio constricta et septata, hyalina vel leviter olivacea, 5—8 $\mu \times 2\,\mu$.

Habitans in calamis emortuis *Tritici speltae* L. — Kt. Zürich, Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg. H. Zogg et E. Müller.

Pyknidien zerstreut, vollständig dem Substrat eingesenkt und nur mit der Mündung an die Oberfläche stoßend, kugelig, zusammengedrückt oder sehr unregelmäßig geformt, 50—90 μ im Durchmesser, Mündung mit sehr verdickten Wänden, die Epidermis durchbrechend, kegelförmig oder halbkugelig aufgesetzt, je nach der Pyknidienlage mit längerem Hals mit diesem verbunden oder auch nur aufgesetzt, aus braunen, sehr verdicktwandigen, regelmäßig vieleckigen, 6—8 μ großen Zellen aufgebaut. Pyknidienwand 7—15 μ dick, aus zartwandigen, mehr oder weniger gestreckten, schwach bräunlichen Zellen gebildet. Konidienträger der ganzen inneren Wand entlang ausgebildet, kurz, nur als kleine, hyaline Höcker vorragend. Konidien kurz zylindrisch, manchmal schwach gekrümmt, in der Mitte septiert und schwach eingeschnürt, hyalin, manchmal schwach olivfarbig, 5—8 $\mu \times 2\,\mu$ (Abb. 2).

Coniothyrium cerealis nov. spec. **(E. Mül. in litt.)**

Pycnidia seriatim dispersa in substrato, singulariter vel bina aut terna aggregata, subepidermalia crescentia, hemisphaerica vel scutiformia 150—250 μ diam., in apice cum poro 10 μ lato. Paries pycnidiorum in base planus, e cellulis hyalinis, regulariter angulatis, 4—6 μ latis formatus. Conidia numerosissima, bacillaria, flava, 4—6 $\mu \times 1\,\mu$ e parietibus cellulorum papilliformum et hyalinorum, 13—15 μ longorum exorta.

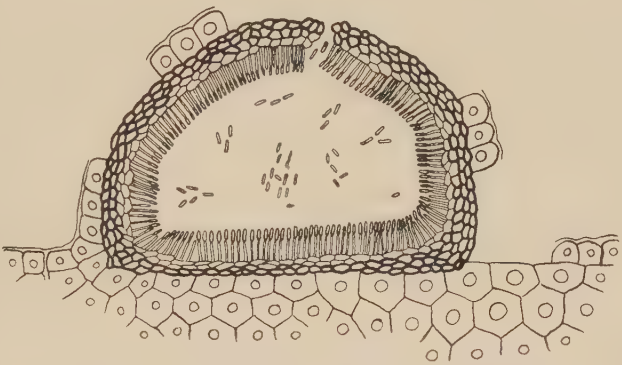


Abb. 3. Querschnitt durch eine Pyknidie von *Coniothyrium cerealis* E. Mül. nov. spec. in litt. Vergrößerung etwa 250mal (Original E. Müller)

Habitans in caulibus emortius *Tritici vulgari* Vill. — Kt. Zürich, Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49. leg. H. Zogg et E. Müller.

Pyknidien gruppenweise über das Substrat zerstreut, einzeln oder in kurzen Reihen zu 2 oder 3 einander stark genähert und manchmal zusammengewachsen, unter der Epidermis sich entwickelnd, diese aufwölbend und zerreißend, halbkugelig bis schildförmig, mit meist flacher Basis aufsitzend, 150—250 μ im Durchmesser, am Scheitel mit kaum vorgewölbtem, etwa 10 μ breitem Porus versehen. Pyknidienwand an der Basis dem Substrat flach aufsitzend, aus fast hyalinen, ziemlich derbwandigen, regelmäßig vieleckigen, 4 bis 6 μ großen Zellen aufgebaut und im ganzen 15—20 μ dick, an den Flanken und am Scheitel aus mehreren Reihen von schwach gestreckten, außen intensiv braun gefärbten, gegen innen allmählich heller werdenden, derbwandigen Zellen aufgebaut, einen Hohlraum umschließend, in den dicht gedrängt, nach dem Zentrum divergierende, hyaline, 13—15 μ lange, fädige Konidienträger ragen. Konidien stäbchenförmig, beidendig stumpf abgerundet, schwach gelblich, in Masse gelbbraun, 4—6 μ lang, 1 μ breit, einzellig (Abb. 3).

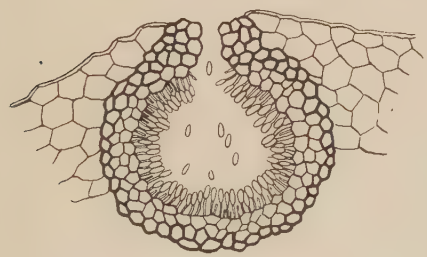


Abb. 4. Querschnitt durch eine Pyknidie von *Phoma raetica* E. Mül. nov. spec. in litt. Vergrößerung etwa 250 mal (Original E. Müller)

Phoma raetica nov. spec. **(E. Mül. in litt.)**

Pycnidia subepidermalia, globosa, 100—130 μ diam. Ostiolum planum, vel plus minusve hemisphaericum. Paries pycnidiorum 15—25 μ crassus, e cellulis plus minusve regulariter, angulatis, brunneis, 8—12 μ latis formatus. Conidiophora secundum parietem, simplicia, 3—7 μ longa, papilliformia, hyalina. Conidia bacillaria vel ellipsoidea, hyalina, saepe in ambobus finibus cum guttulis oleosis, 6—11 $\mu \times 2$—3 μ.

Habitans in calamis emortuis *Hordei distichi* L. — Kt. Graubünden, Lü, 1900 m., 16. 7. 48, leg. H. Zogg.

Pyknidien subepidermal eingesenkt und nur ganz schwach schwarz durchscheinend, kugelig, 100—130 μ im Durchmesser. Ostiolum flach oder schwach halbkugelig aufgesetzt, durchbohrt. Pyknidienwand bis 25 μ dick, aus regelmäßig vieleckigen, außen ziemlich dickwandigen, gegen innen zarter werdenden braunen, 8—12 μ großen Zellen aufgebaut. Konidienträger der ganzen inneren Wand entlang angeordnet, einfach, etwa 3—7 μ lang, fädig, hyalin. Konidien stäbchenförmig oder oblong, hyalin, beidendig oft mit einem Öltropfen, 6—11 μ lang, 2—3 μ breit (Abb. 4). —

Coniothyrium cerealis E. Mül. nov. spec. in litt. wurde außer auf *Triticum vulgare* Vill. noch auf folgenden Wirtspflanzen gefunden: *Hordeum distichon* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller. *Secale cereale* L. Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.

Als Wirtspflanzen der *Phoma raetica* E. Mül. nov. spec. in litt. konnten neben *Hordeum distichon* L. folgende beobachtet werden: *Triticum vulgare* Vill., Kt. Graubünden Schuls, 17. 7. 48, leg.! und Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller. Auf *Secale cereale* L., Zürich-Affoltern, Reckenholz, 28. 3. 49, leg.! und E. Müller.

Sämtliches Herbarmaterial ist im Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich aufbewahrt.

B. Die pathogene Wirkung verschiedener Erregergemische

I. Methodik

Für die Infektionsversuche wurde in der Regel steriler Ziegelgrus (kleine, gebrannte Tonstücke von etwa 1—2 mm Durchmesser) verwendet. Die Getreidekörner wurden nach einer Heißwasser- und anschließenden Formalinbeizung unter sterilen Bedingungen während dreier Tage bei Zimmertemperatur vorgekeimt. In den Versuchen kam also insofern eine Auslese der Wirtspflanzen zustande, indem nur gut gekeimte, gesunde Körner verwendet wurden. Damit konnte zugleich bezweckt werden, daß den Parasiten von Anfang an junges Pflanzenmaterial zur Verfügung stand. In jedem Topf, der mit Knopscher Nährlösung befeuchtet war, wurden je 20 vorgekeimte Körner ausgelegt, diese mit kleinen, vom Pilz durchwachsenen Kleiestücken infiziert und das Ganze mit einer etwa 1—2 cm dicken Schicht von sterilem Ziegelgrus bedeckt, nochmals mit Knopscher Nährlösung angefeuchtet und im Gewächshaus oder (im Winter) bei künstlicher Beleuchtung in einem etwa 15—17 °C warmen Raum gehalten. Nach etwa 2—3 Wochen wurden die Wurzeln der Pflanzen ausgewaschen und kontrolliert. Die Kontrollreihen erfuhren dieselbe Behandlung jedoch ohne Zugabe von Kleie. Für die Infektion kam so viel Pilzmaterial zur Verwendung, daß das Startproblem für die einzelnen Pilze als ausgeschaltet betrachtet werden kann.

Bei der „Mischinfektion“ traten die verschiedenen Pilze erst im Zeitpunkte der Infektion auf den jungen Keimpflänzchen miteinander in Kontakt. Im Gegensatz dazu steht die „Infektion mit der Mischkultur“ der Pilze, bei

welcher diese schon auf dem Nährboden (in der Regel Kleie) Gelegenheit hatten, aufeinander einzuwirken (präinfektionelles Zusammenleben). — Wo bei der Besprechung der Versuche nichts weiteres über das Nährsubstrat angegeben ist, wuchsen die Pilze auf Kleie.

Alle mit schwach-, mittelstark- oder starkpathogenen Pilzen infizierten Pflanzen zeigten in den Versuchen einen Befall. Es war deshalb ausgeschlossen, eine Bewertung des Krankheitsgrades auf Grund der Anzahl befallener Pflanzen anzuwenden. Ein solches Schema eignet sich hauptsächlich für Feldbeobachtungen, wie es z. B. Moore (1943) gezeigt hat, welches dann von der British Mycological Society (Anonymus 1943 und 1947) angenommen und erweitert wurde. — Die Methode von Garrett (1934), nach welcher die Länge der auf den Weizenwurzeln wachsenden Laufhyphen von *Ophiobolus graminis* Sacc. ein gutes Kriterium für die Befallsstärke gibt, konnte nicht in Frage kommen, weil in den vorliegenden Untersuchungen neben *O. graminis* noch andere Parasiten geprüft wurden, die keine Laufhyphen bilden. — Auch die Bestimmung der Trockensubstanzerträge der infizierten und nicht infizierten Pflanzen führte zu keinen verwertbaren Ergebnissen. Diese Bestimmungsmethode war zu grob, sobald schwach- oder mittelstark-pathogene Erreger zu prüfen waren. Ein Beispiel hierfür ist weiter unten (Tabelle 4) angeführt. — Viel eher schien sich die in Amerika eingeführte (z. B. Mc Kinney 1923; Greaney 1938; Walker et al. 1938; Horsfall und Heuberger 1942) und von der British Mycological Society (Anonymus 1948) ebenfalls empfohlene „Disease-Index"-Methode für die durchzuführenden Infektionsversuche zu eignen. Es zeigte sich dann, daß die Fehlerquelle bei der Aufstellung einer einzigen Skala von 0—5 noch zu groß ist. Aus diesem Grunde mußte die Methode modifiziert werden. Es wurde nicht eine ganze Pflanze mit einer einzigen Bonitierungszahl charakterisiert, sondern die einzelnen Teile einer Pflanze, die für den Befall durch Fußkrankheitserreger wichtig sind: 1. Die Primärwurzeln; 2. die Sekundärwurzeln; 3. der Halmgrund. Auf diese Weise wurden ausschließlich einheitliche Elemente bonitiert, wodurch die unvermeidlichen Beobachtungsfehler reduziert wurden. Der Bonitierung der Primär- und Sekundärwurzeln sowie des Halmgrundes wurde derselbe Maßstab zugrunde gelegt. Die Befallsklasse, der Befallsgrad und die Charakteristik der einzelnen Pflanzenteile sind in der Tabelle 3 aufgeführt und in der Abb. 5 schematisch dargestellt.

Tabelle 3

Bonitierungsschema für die durch verschiedene Erreger erzeugten Fußkrankheiten

Befallsklasse	Befallsgrad	Charakteristik der Krankheitsbilder für Primärwurzeln, bzw. Sekundärwurzeln, bzw. Halmgrund
1.	0	Pflanzenteile vollständig gesund, ohne irgendwelche Flecken
2.	1	Leicht gelbliche Verfärbungen
3.	2	Gelbliche bis bräunliche Verfärbungen, vereinzelt braune Streifen oder Flecken
4.	3	Starke Verbräunungen, teilweise Vermorschung, viele braune Streifen oder Flecken
5.	4	Pflanzenteile total vermorscht oder verfault, abgestorben

Die Errechnung der Größe des schließlich auf die Prozentbasis gebrachten Krankheitsindexes stützt sich darauf, daß eine stark befallene Pflanze mit einem Befallsgrad 3 für die Bewertung dreimal stärker ins Gewicht fällt als eine solche des Krankheitsgrades 1. Deshalb wird die Pflanzenzahl des Krankheitsgrades 3 mit 3 multipliziert. Dieses Verfahren führt bei der modifizierten „Disease-Index"-Methode zu folgender Formel:

$$\text{Krankheitsindex K (in \%)} = \frac{\text{Summe}\left(\begin{matrix}\text{Anzahl Pflanzen} \\ \text{je Befallsgrad}\end{matrix} \times \begin{matrix}\text{entsprechender} \\ \text{Befallsgrad}\end{matrix}\right)}{12 \times \text{Gesamtzahl Pflanzen}} \times 100$$

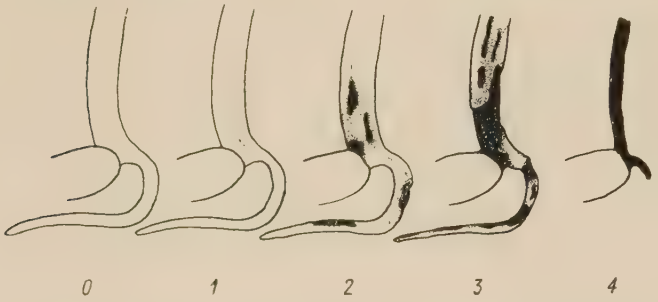


Abb. 5. Schematische Wiedergabe der verschiedenen Befallsstärken von 0—4 auf dem Halmgrund und den Wurzeln von jungen Weizenpflanzen. (Weitere Erklärungen im Text)

Die mathematisch-statistische Bewertung sämtlicher Versuche erfolgte nach der Methode der Streuungszerlegung (Fisher 1941; Snedecor 1946; Linder 1945). Vor allem soll ein Beispiel zeigen, daß der Auswertung der Versuche mittels der vorgängig beschriebenen Methode der Bestimmung der Krankheitsindizes (K in Prozent) gegenüber derjenigen der Bestimmung der Trockensubstanzerträge der Vorzug gegeben werden muß. Aus der Tabelle 4 ergeben sich für die Krankheitsindizes folgende Testwerte: F-Test: P = 0,05: 1,8; P = 0,01: 2,3; für den Versuch: 5,4. Der Versuch ist demnach hinsichtlich der Krankheitsindizes als gesichert zu betrachten. t-Test: P = 0,05: 14,1; P = 0,01: 18,8. Somit sind die Verfahren 1, 6, 8 und 13 in der Tabelle 4 voneinander nicht, die übrigen Verfahren dagegen vom Verfahren 1 (= nicht infiziert) deutlich verschieden. — Der F-Wert für die Trockensubstanzerträge des gleichen Versuchsmateriales erreicht einen Wert von nur 1,0, was anzeigt, daß der Versuch auf Grund der Trockensubstanzerträge als nicht gesichert anzusehen ist. Dementsprechend ergeben auch die t-Werte keine Unterschiede zwischen den einzelnen Mittelwerten (P = 0,05: 7,06; P = 0,01: 9,39). — Noch von

Tabelle 4

Krankheitsindizes in K % und Trokkensubstanzerträge der Wirtspflanzen in mg aus einem Mischinfektionsversuch mit allen Kombinationen von 4 verschiedenen Erregern.

A = *Leptosphaeria eustomoides* Sacc.: B = *Helminthosporium gramineum* Rabh.; C = *Wojnowicia graminis* (McAlp.) Sacc.; D = *Phoma raetica* E. Mül. nov. spec. in litt.

Verfahren	K %	mg
1. Nicht infiziert . .	26,1	28,8
2. A allein	59,6	26,4
3. B allein	52,9	26,5
4. C allein	53,5	25,6
5. D allein	55,1	24,8
6. A + B	28,1	31,7
7. A + C	60,8	28,6
8 A + D	36,6	31,5
9. B + C	47,1	27,7
10. B + D	59,0	26,3
11. C + D	60,5	24,0
12. A + B + C . .	49,7	31,0
13. A + B + D . .	37,9	26,4
14. A + C + D . .	62,7	24,9
15. B + C + D . .	54,3	30,3
16. A + B + C + D .	50,9	25,5

einigen weiteren Versuchen wurden die Krankheitsindizes und die Trockensubstanzerträge ermittelt. Auch in diesen Fällen ergaben sich hinsichtlich der Trockensubstanzerträge keine gesicherten Unterschiede.

Wo bei der Besprechung der Versuchsresultate über die verwendete Wirtspflanze nichts anderes angegeben ist, handelt es sich um junge Weizenpflanzen (Sommerweizen, Sorte Huron).

II. Die verschiedenen Reaktionstypen und das gegenseitige Verhalten der Pilze in vitro

Echte Mischinfektionen werden durch zwei oder mehrere verschiedenartige Erreger ausgelöst, die gleichzeitig dieselben Organe eines Wirtes befallen. Die Resultate der Mischinfektionsversuche zeigten, daß drei verschiedene, durch Erregergemische verursachte Reaktionstypen unterschieden werden müssen (Zogg 1950 b):

1. Indifferenz: Der Befallsgrad der Mischinfektion entspricht demjenigen des stärksten Erregers in Einzelinfektion.
2. Depression: Der Befallsgrad der Mischinfektion ist deutlich niedriger als derjenige des stärksten Erregers in Einzelinfektion (Abb. 6).
3. Verstärkung: Der Befallsgrad der Mischinfektion ist deutlich höher als derjenige des stärksten Erregers in Einzelinfektion (Abb. 7).

Es erwies sich als vorteilhaft, eine weitere Aufteilung insbesondere der beiden Reaktionstypen „Indifferenz" und „Depression" in je zwei Untergruppen mit gleichstarken und ungleichstarken Erregern vorzunehmen.

Abb. 6. Mischinfektion vom Typus „Depression, ungleichstarke Erreger" mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Ascochyta graminicola* Sacc. auf Weizen. — Links: Zwei nicht infizierte Pflanzen. Mitte: Zwei mit *O. graminis* infizierte Pflanzen (starker Befall). Rechts: Zwei Pflanzen mit der frischen Mischung von *O. graminis* und *A. graminicola* infiziert (mittelstarker Befall). Phot. Dr. F. Bachmann. (Nach Zogg 1950a, und Gäumann 1950)

Verhalten sich z. B. gleichstarke Erreger in der Mischinfektion indifferent, so heißt das, daß keine einfache Überlagerung der Befallsbilder der einzelnen Partner stattfindet. Mit den Mischinfektionsversuchen allein kann nicht festgestellt werden, ob die beiden Erreger sich gegenseitig auf irgendeine Weise beeinflussen, ob der eine Erreger im Wirt unterdrückt

wird, der andere dagegen ungehemmt zu infizieren vermag usw. Es steht nur fest, daß der Infektionserfolg nicht anders ausfällt als bei den Einzelinfektionen. Treffen bei der Infektion zwei oder mehrere ungleichstarke Erreger zusammen, so gibt in der Mischinfektion vom Typus „Indifferenz" der stärkere Parasit „den Ton an". Das heißt, daß die schwächeren Erreger auf den Schlußeffekt keinen Einfluß auszuüben scheinen. Aber auch in diesen Fällen kann durch die Mischinfektionsversuche nur das Schlußresultat festgestellt werden.

Abb. 7. Mischinfektion vom Typus „Verstärkung" mit *Fusarium oxysporum* Schlecht. *v. aurantiacum* (Lk.) Wr. und *F. orthoceras* App. et. Wr. *v. longius* (Sherb.) Wr. auf Weizen. a: Zwei nicht infizierte Pflanzen. b: Zwei Pflanzen mit *F. oxysporum v. aurantiacum* infiziert (schwacher Befall). c: Zwei Pflanzen mit *F. orthoceras v. longius* infiziert (schwacher Befall). d: Mischinfektion mit diesen beiden *Fusarium*-Arten (starker Befall). Phot. Dr. F. Bachmann. (Nach Zogg 1950a)

Auch im Falle der „Depression" sind verschiedene Möglichkeiten vorhanden, je nachdem es sich um gleichstarke oder ungleichstarke Erreger handelt. Gleichstarke Erreger hemmen sich entweder gleichstark, so daß nur eine schwächere Infektion zustande kommen kann, oder der eine Partner wird ganz ausgeschaltet und der andere derart gehemmt, daß er kaum mehr zu infizieren vermag usw. Im Falle zweier ungleichstarker Kombinationsglieder kann der Krankheitsgrad als Folge der Mischinfektion irgendwo zwischen dem stärkeren und schwächeren oder unter dem schwächeren Befallsgrad der Einzelinfektionen liegen.

Beim Typus „Verstärkung" übersteigt der Krankheitsindex den Wert desjenigen des stärksten Erregers in Einzelinfektion. Ob es sich dabei um gleichstarke oder ungleichstarke Erreger handelt, dürfte gleichgültig sein, da in jedem Falle eine Überlagerung des Krankheitsbildes zustande kommen kann.

Einige Beispiele für die verschiedenen Reaktionstypen bei Mischinfektionen mit zwei Erregern sind in den Tabellen 5—9 dargestellt (vgl. Gäumann 1950, S. 312—316).

Tabelle 5
Beispiele von Mischinfektionen des Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger" (Krankheitsindizes: K %)

Kombinationsglieder mit Angabe der K % der entsprechenden Einzelinfektionen	Erfolg der Mischinfektion: K %
Leptosphaeria herpotrichoides (38,1) + *L. nigrans* (31,5)	29,9
Ophiobolus graminis (80,2) + *Diplodina speltae* (79,9)	83,9
Leptosphaeria eustomoides (59,6) + *Wojnowicia graminis* (53,5) .	60,8
Leptosphaeria linearis (26,4) + *Torula graminis* (25,9)	29,0
Wojnowicia graminis (46,8) + *Hendersonia aberrans* (42,7) . .	44,0
Wojnowicia graminis (53,5) + *Helminthosporium gramineum* (52,9)	47,1
Ascochyta graminicola (19,2) + *Coniosporium arundinis* (17,5) .	24,8
Ascochyta graminicola (19,2) + *Alternaria humicola* (20,0) . .	21,5
Coniosporium arundinis (17,5) + *Alternaria humicola* (20,0) . .	18,6

Tabelle 6
Beispiele von Mischinfektionen des Typus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger" (Krankheitsindizes: K %)

Kombinationsglieder mit Angabe der K % der entsprechenden Einzelinfektionen	Erfolg der Mischinfektion: K %
Ophiobolus graminis (63,4) + *Leptosphaeria clavata* (16.2) . . .	60,7
Ophiobolus graminis (63,4) + *Leptosphaeria recutita* (36,3) . . .	63,6
Leptosphaeria nigrans (47,7) + *L. recutita* (21,9)	48,9
Ophiobolus graminis (75,4) + *Wojnowicia graminis* (32,5) . . .	75,1
Ophiobolus graminis (75,4) + *Hendersonia aberrans* (42,7) . . .	76,9
Ophiobolus graminis (69,9) + *Fusarium oxysporum v. aurantiacum* (35,7)	70,4
Ophiobolus herpotrichus (43,9) + *Fusarium culmorum* (66,6) . .	67,2
Pleospora infectoria (2,8) + *Helminthosporium gramineum* (20,8)	22,1
Diplodina speltae (79,9) + *Coniothyrium cerealis* (66,0)	82,6

Tabelle 7
Beispiele von Mischinfektionen des Typus „Depression, gleichstarke Erreger" (Krankheitsindizes: K %)

Kombinationsglieder mit Angabe der K % der entsprechenden Einzelinfektionen	Erfolg der Mischinfektion: K %
Ophiobolus herpotrichus (45,3) + *Leptosphaeria nigrans* (47,7) .	28,5
Leptosphaeria eustomoides (59,6) + *Helminthosporium gramineum* (52,9)	28,1
Leptosphaeria eustomoides (59,6) + *Phoma raetica* (55,1)	36,6

Tabelle 8
Beispiele von Mischinfektionen des Typus „Depression, ungleichstarke Erreger" (Krankheitsindizes: K %)

Kombinationsglieder mit Angabe der K % der entsprechenden Einzelinfektionen	Erfolg der Mischinfektion: K %
Ophiobolus graminis (69,8) + *Pleospora infectoria* (2,8)	39,5
Ophiobolus graminis (69,5) + *Pyrenophora trichostoma* (16,7) . .	50,6
Ophiobolus herpotrichus (45,3) + *Leptosphaeria clavata* (16,1) . .	28,2
Ophiobolus graminis (76,9) + *Ascochyta graminicola* (19.2) . .	52,6
Ophiobolus graminis (69,8) + *Helminthosporium gramineum* (20,8)	44,2
Calonectria graminicola (80,6) + *Fusarium culmorum v. cereale* (40,8)	50,8
Calonectria graminicola (80,6) + *Fusarium tricinctum* (43,7) . .	64,6
Coniothyrium cerealis (66,0) + *Phoma raetica* (22,4)	46,0

Tabelle 9

Beispiele von Mischinfektionen des Typus „Verstärkung“ (Krankheitsindizes K %)

Kombinationsglieder mit Angabe der K % der entsprechenden Einzelinfektionen	Erfolg der Mischinfektion: K %
Leptosphaeria recutita (21,9) + *L. clavata* (16,1)	43.7
Leptosphaeria eustomoides (47,7) + *L. recutita* (36,3)	64,4
Leptosphaeria linearis (26,4) + *Gibberella Saubinetii* (22,5)	41.7
Fusarium tricinctum (43,7) + *F. culmorum r. cercale* (40,8)	59,3
Fusarium orthoceras r. longius (1,4) + *Gibberella pulicaris* (4,3)	22,8
Gibberella Saubinetii (22,5) + *Torula graminis* (25,9)	55,2
Fusarium oxysporum v. aurantiacum (35,7) + *F. orthoceras v. longius* (1,4)	50,3
Fusarium oxysporum v. aurantiacum (35,7) + *Gibberella pulicaris* (4,3)	54,6
Gibberella Saubinetii (22,5) + *Hendersonia aberrans* (32,5)	53,5

Bei Hinzutreten von einem oder zwei weiteren Erregern bleibt in den einen Fällen die Reaktionslage gleich; in anderen Fällen dagegen wird sie in irgendeiner Weise verschoben.

Ophiobolus graminis Sacc., *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc., *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. und *F. oxysporum* Schlecht. verhalten sich in jeder beliebigen Dreier- und der Viererkombination indifferent, wobei der stärker pathogene Pilz die Höhe des Befallsgrades bestimmt (Tabelle 10). Im Prinzip gleiche Resultate ergeben die Kombinationsgruppen mit *O. graminis* Sacc., *Fusarium solani* (Mart.) App. et Wr. *v. minus* Wr., *Fusarium* sp. (Gruppe *Sporotrichiella*) und *F. scirpi* Lamb. et Fautr. oder *O. graminis* Sacc., *Wojnowicia graminis* (McAlp.) Sacc. (Stamm 608), *W. graminis* (McAlp.) Sacc. (Stamm 699) und *Hendersonia aberrans* Petr.

Tabelle 10

Mischinfektionsversuch mit allen Kombinationen von *Ophiobolus graminis* Sacc., *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc., *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. und *F. oxysporum* Schlecht. F-Test: P = 0,05: 1,8; P = 0,01: 2,3; Versuch: 113,0, t-Test: P = 0,05: 6,3; P = 0,01: 8,4

Verfahren	K %	Bemerkungen
Nicht infiziert	7,0	
Ophiobolus graminis Sacc. allein	67,2	stark pathogen
Ophiobolus herpotrichus (Fr.) Sacc. allein	43,9	mittel pathogen
Fusarium culmorum (W. G. Sm.) Sacc. allein	66,6	stark pathogen
Fusarium oxysporum Schlecht. allein	31,3	mittel pathogen
Oph. gram. + *Oph. herp.*	74,0	Indifferenz
Oph. gram. + *Fus. culm.*	76,4	Indifferenz
Oph. gram. + *Fus. oxysp.*	57,2	Indifferenz
Oph. herp. + *Fus. culm.*	67,2	Indifferenz
Oph. herp. + *Fus. oxysp.*	46,5	Indifferenz
Fus. culm. + *Fus. oxysp.*	58,4	Indifferenz
Oph. gram. + *Oph. herp.* + *Fus. culm.*	75,9	Indifferenz
Oph. gram. + *Oph. herp.* + *Fus. oxysp.*	75,5	Indifferenz
Oph. gram. + *Fus. culm.* + *Fus. oxysp.*	69,2	Indifferenz
Oph. herp. + *Fus. culm.* + *Fus. oxysp.*	61,9	Indifferenz
Oph. gram. + *Oph. herp.* + *Fus. culm.* + *Fus. oxysp.*	78,8	Indifferenz

Ebenso einfach liegen die Verhältnisse für den Fall der „Depression" bei folgenden zwei Beispielen: *Ascochyta graminicola* Sacc., *Coniosporium arundinis* (Cda.) Sacc. und *Alternaria humicola* Oudem. bewirken gegenüber *Ophiobolus graminis* Sacc. je eine Depression des Befallsgrades, sei es in einer der möglichen Dreier-, sei es in der Viererkombination. Die drei erstgenannten Pilze verhalten sich untereinander indifferent (Tabelle 11). — Die gleiche Reaktionslage wurde für die Gruppe *Pyrenophora trichostoma* (Fr.) Fuck., *Pleospora infectoria* Fuck. und *Helminthosporium gramineum* Rabh. wiederum gegenüber *Ophiobolus graminis* Sacc. gefunden.

Tabelle 11

Mischinfektionsversuch mit allen Kombinationen von *Ophiobolus graminis* Sacc., *Ascochyta graminicola* Sacc., *Coniosporium arundinis* (Cda.) Sacc. und *Alternaria humicola* Oudem. F-Test: P = 0.05 : 1,8; P = 0,01 : 2,3; Versuch: 360,6, t-Test: P = 0,05: 3,8; P = 0,01: 5,0

Verfahren	K %	Bemerkungen
Nicht infiziert	1,5	
Ophiobolus graminis Sacc. allein	76,9	stark pathogen
Ascochyta graminicola Sacc. allein	19,2	schwach pathogen
Coniosporium arundinis (Cda.) Sacc. allein	17,5	schwach pathogen
Alternaria humicola Oudem. allein	20,0	schwach pathogen
Oph. gram. + *Asc. gram.*	52,6	Depression
Oph. gram. + *Coniosp. arund.*	68,2	Depression
Oph. gram. + *Alt. hum.*	64,3	Depression
Asc. gram. + *Coniosp. arund.*	24,8	Indifferenz
Asc. gram. + *Alt. hum.*	21,5	Indifferenz
Coniosp. arund. + *Alt. hum.*	18,6	Indifferenz
Oph. gram. + *Asc. gram.* + *Coniosp. arund.*	57,2	Depression
Oph. gram. + *Asc. gram.* + *Alt. hum.*	44,0	Depression
Oph. gram. + *Coniosp. arund.* + *Alt. hum.*	63,3	Depression
Asc. gram. + *Coniosp. arund.* + *Alt. hum.*	21,3	Indifferenz
Oph. gram. + *Asc. gram.* + *Coniosp. arund.* + *Alt. hum.*	65,3	Depression

Als einfache Fälle für den Reaktionstypus „Verstärkung" seien schließlich die beiden folgenden Beispiele erwähnt: *Fusarium oxysporum* Schlecht. *v. aurantiacum* (Lk.) Wr., *F. orthoceras* App. et Wr. *v. longius* (Sherb.) Wr. und *Gibberella pulicaris* (Fr.) Sacc. verursachen sowohl in den Zweier- als auch in der Dreierkombination eine erhebliche Verstärkung des Befallsgrades. Kommt *Ophiobolus graminis* Sacc. hinzu, so erfolgt keine weitere Verstärkung (Tabelle 12). — Im zweiten Beispiel ergaben sämtliche Kombinationen der Pilze *Leptosphaeria linearis* (Sacc.) E. Mül., *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc., *Hendersonia aberrans* Petr. und *Torula graminis Desm.* (mit Ausnahme von *L. linearis* + *Torula graminis*: Indifferenz) eine Verstärkung des Befallsgrades gegenüber demjenigen der Einzelinfektionen.

Bereits komplizierter erweist sich die Reaktionslage folgender Beispiele: *Coniothyrium cerealis* E. Mül. nov. spec. in litt. und *Phoma raetica* E. Mül. nov. spec. in litt. ergeben in Mischinfektion eine Depression des Befallsgrades. Treten *Ophiobolus graminis* Sacc. oder *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt. oder beide zusammen hinzu, so ergibt sich in allen Fällen ein, gegenüber den letztgenannten Erregern indifferentes, Befallsbild (Tabelle 13).

Tabelle 12

Mischinfektionsversuch mit allen Kombinationen von *Ophiobolus graminis* Sacc., *Fusarium oxysporum* Schlecht. *v. aurantiacum* (Lk.) Wr., *F. orthoceras* App. et Wr. *v. longius* (Sherb.) Wr. und *Gibberella pulicaris* (Fr.) Sacc. F-Test: P = 0,05: 1,8; P = 0,01: 2,3; Versuch: 171,6, t-Test: P = 0,05: 5,8; P = 0,01: 7,9

Verfahren	K %	Bemerkungen
Nicht infiziert	1,3	
Ophiobolus graminis Sacc. allein	69,9	stark pathogen
Fusarium oxysporum Schecht. *v. aurantiacum* (Lk.) Wr. allein	35,7	mittel pathogen
Fusarium orthoceras App. et Wr. *v. longius* (Sherb.) Wr. allein	1,4	apathogen
Gibberella pulicaris (Fr.) Sacc. allein	4,3	apathogen
Oph. gram. + *Fus. oxysp.*	70,4	Indifferenz
Oph. gram. + *Fus. orth.*	63,4	Indifferenz
Oph. gram. + *Gibb. pul.*	63,9	Indifferenz
Fus. oxysp. + *Fus. orth.*	50,3	Verstärkung
Fus. oxysp. + *Gibb pul.*	54,6	Verstärkung
Fus. orth. + *Gibb. pul.*	22,8	Verstärkung
Oph. gram. + *Fus. oxysp.* + *Fus. orth.*	71,6	Indifferenz
Oph. gram. + *Fus. oxysp.* + *Gibb. pul.*	72,5	Indifferenz
Oph. gram. + *Fus. orth.* + *Gibb. pul.*	61,7	Indifferenz
Fus. oxysp. + *Fus. orth.* + *Gibb. pul.*	66,0	Verstärkung
Oph. gram. + *Fus. oxysp.* + *Fus. orth.* + *Gibb. pul.*	73,4	Indifferenz

Tabelle 13

Mischinfektionsversuch mit allen Kombinationen von *Ophiobolus graminis* Sacc., *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt., *Coniothyrium cerealis* E. Mül. nov spec. in litt. und *Phoma raetica* E. Mül. nov. spec. in litt. F-Test: P = 0,05: 1,8 P = 0,01: 2,3; Versuch: 179,7, t-Test: P = 0,05: 4,8, P = 0,01: 6,3.

Verfahren	K %	Bemerkungen
Nicht infiziert	11,1	
Ophiobolus graminis Sacc. allein	80,2	stark pathogen
Diplodina speltae E. Mül. nov. spec. in litt. allein	79,9	stark pathogen
Coniothyrium cerealis E. Mül. nov. spec. in litt. allein	66,0	stark pathogen
Phoma raetica E. Mül. nov. spec. in litt. allein	22,4	schwach pathogen
Oph. gram. + *Diplod.*	83,9	Indifferenz
Oph. gram. + *Conioth.*	70,8	Indifferenz
Oph. gram. + *Phoma*	72,1	Indifferenz
Diplod. + *Conioth.*	82,6	Indifferenz
Diplod. + *Phoma*	86,0	Indifferenz
Conioth. + *Phoma*	46,0	Depression
Oph. gram. + *Diplod.* + *Conioth.*	80,5	Indifferenz
Oph gram. + *Diplod.* + *Phoma*	80,0	Indifferenz
Oph. gram. + *Conioth.* + *Phoma*	73,3	Indifferenz
Diplod. + *Conioth.* + *Phoma*	85,9	Indifferenz
Oph. gram. + *Diplod.* + *Conioth.* + *Phoma*	84,2	Indifferenz

Oder: *Leptosphaeria eustomoides* Sacc., *Helminthosporium gramineum* Rabh. und *Phoma raetica* E. Mül. nov. spec. in litt. verursachen sowohl in den Zweierkombinationen als auch in der Dreierkombination eine Depression des Krankheitsgrades. Tritt *Wojnowicia graminis* (McAlp.) Sacc. dazu, so wird der Effekt in allen Fällen aufgehoben. Es entsteht ein indifferentes Bild. Diese Resultate sind in der Tabelle 4 wiedergegeben.

Oder: *Leptosphaeria herpotrichoides* de Not., *L. nigrans* (Desm.) Ces. et de Not. und *L linearis* (Sacc.) E. Mül. ergeben in den Zweierkombinationen den indifferenten Reaktionstypus; in der Dreierkombination kommt dagegen eine Verstärkung des Befallsgrades zustande. Tritt noch *Ophiobolus graminis* Sacc. hinzu, so wird das Resultat von neuem in „Indifferenz" abgewandelt (Tabelle 14).

Tabelle 14

Mischinfektionsversuch mit allen Kombinationen von *Ophiobolus graminis* Sacc., *Leptosphaeria herpotrichoides* de Not., *L. nigrans* (Desm.) Ces. et de Not. und *L. linearis* (Sacc.) E. Mül. F-Test: P = 0,05: 1,8; P = 0,01: 2,3; Versuch: 195,3. t-Test: P = 0,05: 4,7; P = 0,01: 6,1

Verfahren	K %	Bemerkungen
Nicht infiziert	0,7	
Ophiobolus graminis Sacc. allein	71.4	stark pathogen
Leptosphaeria herpotrichoides de Not. allein	38,1	mittel pathogen
Leptosphaeria nigrans (Desm.) Ces. et de Not. allein	31,5	mittel pathogen
Leptosphaeria linearis (Sacc.) E. Mül. allein	29,1	mittel pathogen
Oph. gram. + *Lept. herp.*	67,9	Indifferenz
Oph. gram. + *Lept. nigr.*	61,0	Depression
Oph. gram. + *Lept. lin*	66,0	Indifferenz
Lept. herp. + *Lept. nigr.*	29,9	Indifferenz
Lept. herp. + *Lept. lin.*	33,5	Indifferenz
Lept. nigr. + *Lept. lin.*	23,8	Indifferenz
Oph. gram. + *Lept. herp.* + *Lept. nigr.*	64,5	Indifferenz
Oph. gram. + *Lept. herp.* + *Lept. lin.*	71,3	Indifferenz
Oph. gram. + *Lept. nigr.* + *Lept. lin.*	69,9	Indifferenz
Lept. herp. + *Lept. nigr.* + *Lept. lin.*	63,5	Verstärkung
Oph. gram. + *Lept. herp.* + *Lept. nigr.* + *Lept. lin.*	79,8	Indifferenz

Ein noch komplizierteres Verhalten weisen die Kombinationen der Pilze *Ophiobolus graminis* Sacc., *Calonectria graminicola* (Berk. et Brme.) Wr., Nebenfruchtform: *Fusarium nivale* (Fr.) Sacc.. *F. tricinctum* (Cda.) Sacc. und *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. *v. cereale* (Cke.) Wr. auf. Sowohl die paarweisen Kombinationen von *O. graminis* mit den drei *Fusarium*-Arten als auch die Dreierkombinationen von *O. graminis* mit je zwei der genannten *Fusarium*-Arten verhalten sich indifferent. Der Befallsgrad erfährt dagegen durch die Viererkombination eine Depression gegenüber dem stärksten Erreger (*C. graminicola*). Zudem verursacht die Mischinfektion mit *C. graminicola* und *F. tricinctum*, sowie diejenige mit *C. graminicola* und *F. culmorum v. cereale* eine Depression, dagegen diejenige mit *F. tricinctum* und *F. culmorum v. cereale* eine Verstärkung des Befallsgrades. Nehmen diese drei Fusarien gemeinsam an einer Mischinfektion teil, so resultiert dagegen ein verstärktes Befallsbild (Tabelle 15).

Schließlich soll ein letztes Beispiel zeigen, daß die Verhältnisse je nach der Art der einzelnen Partner praktisch unentwirrbar sein können: *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc., *Leptosphaeria nigrans* (Desm.) Ces. et de Not., *L. recutita* (Fuck.) E. Mül. und *L. clavata* Guyot. Die Tabelle 16 vermittelt einen Begriff über die Kompliziertheit des Zusammenspiels der einzelnen Erreger bei gewissen Mischinfektionen. *O. herpotrichus* und *L. nigrans* z. B. ergeben

Tabelle 15

Mischinfektionsversuch mit allen Kombinationen von *Ophiobolus graminis* Sacc., *Calonectria graminicola* (Berk. et Brme.) Wr., *Fusarium tricinctum* (Cda.) Sacc. und *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. *v. cereale* (Cke.) Wr. F-Test: P = 0,05: 1,8; P = 0,01: 2,3; Versuch: 17,0. t-Test P = 0,05: 11,4; P = 0,01: 14,8

Verfahren	K %	Bemerkungen
Nicht infiziert	11,6	
Ophiobolus graminis Sacc. allein	66,0	stark pathogen
Calonectria graminicola (Berk. et Brme.) Wr. allein	80,6	stark pathogen
Fusarium tricinctum (Cda.) Sacc. allein	43,7	mittel pathogen
Fusarium culmorum (W. G. Sm.) Sacc. *v. cereale* (Cke.) Wr. allein	40,8	mittel pathogen
Oph. gram. + *Cal. gram.*	77,2	Indifferenz
Oph. gram. + *Fus. tric.*	70,2	Indifferenz
Oph. gram. + *Fus. culm. v. cer.*	67,2	Indifferenz
Cal. gram. + *Fus. tric.*	64,6	Depression
Cal. gram. + *Fus. culm. v. cer.*	50,8	Depression
Fus. tric. + *Fus. culm. v. cer.*	59,3	Verstärkung
Oph. gram. + *Cal. gram.* + *Fus. tric.*	79,2	Indifferenz
Oph. gram. + *Cal. gram.* + *Fus. culm. v. cer.*	72,9	Indifferenz
Oph. gram. + *Fus. tric.* + *Fus. culm. v. cer.*	67,4	Indifferenz
Cal. gram. + *Fus. tric.* + *Fus. culm. v. cer.*	63,4	Depression
Oph. gram. + *Cal. gram.* + *Fus. tric.* + *Fus. culm. v. cer.*	68,8	Depression

in Mischung eine Depression gegenüber dem Befallsgrad der beiden einzelnen mittelstark pathogenen Erreger. Tritt z. B. noch *L. recutita*, ein schwach pathogener Parasit, hinzu, so resultiert eine Verstärkung des Befallsgrades. Wenn diesen drei Erregern noch die schwach pathogene *L. clavata* beitritt, so ergibt sich ein den mittelstark pathogenen Parasiten gegenüber indifferenter Befallsgrad.

Tabelle 16

Mischinfektionsversuch mit allen Kombinationen von *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc., *Leptosphaeria nigrans* (Desm.) Ces. et de Not., *L. recutita* (Fuck.) E. Mül. und *L. clavata* Guyot. F-Test: P = 0,05: 1,8; P = 0,01: 2,3; Versuch: 116,2. t-Test: P = 0,05: 4,0; P = 0,01: 5,4

Verfahren	K %	Bemerkungen
Nicht infiziert	2,4	
Ophiobolus herpotrichus (Fr.) Sacc. allein	45,3	mittel pathogen
Leptosphaeria nigrans (Desm.) Ces. et de Not. allein	47,7	mittel pathogen
Leptosphaeria recutita (Fuck.) E. Mül. allein	21,9	schwach pathogen
Leptosphaeria clavata Guyot allein	16,1	schwach pathogen
Oph. herp. + *Lept. nigr.*	28,5	Depression
Oph. herp. + *Lept. rec.*	48,9	Indifferenz
Oph. herp. + *Lept. clav.*	28,2	Depression
Lept. nigr. + *Lept. rec.*	48,9	Indifferenz
Lept. nigr. + *Lept. clav.*	50,4	Indifferenz
Lept. rec. + *Lept. clav.*	43,7	Verstärkung
Oph. herp. + *Lept. nigr.* + *Lept. rec.*	59,5	Verstärkung
Oph. herp. + *Lept. nigr.* + *Lept. clav.*	50,7	Indifferenz
Oph. herp. + *Lept. rec.* + *Lept. clav.*	37,3	Depression
Lept. nigr. + *Lept. rec.* + *Lept. clav.*	42,0	Indifferenz
Oph. herp. + *Lept. nigr.* + *Lept. rec.* + *Lept. clav.*	41,9	Indifferenz

Eine Prognose über den zu erwartenden Erfolg einer Mischinfektion zu stellen, ist unmöglich. Jede Kombination von zwei oder mehreren Erregern ist als neue Krankheit zu werten und gesondert zu untersuchen.

Neben den Mischinfektionsversuchen wurden die Pilze auf ihr gegenseitiges, antagonistisches Verhalten auf Malzagar geprüft. In Anlehnung an die Arbeit von Broadfoot (1933 c) wurden drei Gruppen aufgestellt:

a) Gegenseitige stark antagonistische Einwirkung unter Bildung eines verschieden breiten Hemmungshofes.

b) Schwächere antagonistische Wirkung: Aneinanderwachsen der Myzelien unter Bildung einer Demarkationslinie.

c) Keine sichtbare antagonistische Wirkung; gegenseitiges Durch- oder Überwachsen der Myzelien.

In allen Fällen zeigten die Dreier- und Viererkombinationen dasselbe Bild wie die Zweierkombinationen. Eine Aufhebung der antagonistischen Wirkung (Entgiftung des Nährsubstrates) durch einen dritten Pilz, wie es Winter (1948 b) nachwies, konnte nicht beobachtet werden. Die folgenden Beispiele sind nach den verschiedenen Reaktionstypen, die bei den Mischinfektionen vorkommen können, geordnet.

1. Die Myzelien von *Fusarium* sp. (Gruppe *Sporotrichiella*) und *F. scirpi* ergeben auf Malzagar einen Hemmungshof von 1—2 mm Breite; diejenigen von *Ascochyta graminicola* und *Coniosporium arundinis* wachsen aneinander und bilden eine Demarkationslinie; diejenigen von *Wojnowicia graminis* und *Helminthosporium gramineum* wuchsen mehr oder weniger hemmungslos durcheinander. Dabei gehören alle drei Beispiele dem Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger" an.
2. Die Myzelien von *Ophiobolus graminis* und *Leptosphaeria eustomoides* bilden einen Hemmungshof von 3—4 mm Breite, währenddem diejenigen von *O. graminis* und *Wojnowicia graminis* bis zu einer Demarkationslinie aneinander und diejenigen von *O. graminis* und *Fusarium culmorum v. cereale* mehr oder weniger hemmungslos durcheinander wachsen. Diese drei Erreger entsprechen dem Typus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger".
3. Von den im ganzen gefundenen drei Beispielen des Typus „Depression, gleichstarke Erreger" bilden *Leptosphaeria eustomoides* und *Phoma raetica* eine Demarkationslinie, währenddem die Myzelien von *Ophiobolus herpotrichus* und *Leptosphaeria nigrans* bzw. *L. eustomoides* und *Helminthosporium gramineum* sich mehr oder weniger durchwachsen.
4. Die Myzelien von *Coniothyrium cerealis* und *Phoma raetica* bilden einen Hemmungshof von 1 mm Breite; diejenigen von *Ophiobolus graminis* und *Pyrenophora trichostoma* wachsen aneinander (Demarkationslinie); diejenigen von *Ophiobolus graminis* und *Helminthosporium gramineum* durchwachsen sich gegenseitig. Diese Beispiele gehören dem Typus „Depression, ungleichstarke Erreger" an.
5. Auch beim Mischinfektionstypus „Verstärkung" verhalten sich die Pilze auf Malzagar uneinheitlich: *Hendersonia aberrans* und *Torula graminis* bilden einen Hemmungshof von 1—2 mm Breite, die Myzelien von

Leptosphaeria eustomoides und *L. recutita* eine Demarkationslinie, und diejenigen von *Fusarium orthoceras v. longius* und *Gibberella pulicaris* wachsen mehr oder weniger hemmungslos durcheinander.

Aus diesen Versuchen folgt, daß zwischen dem Reaktionstypus von Mischinfektionen und dem gegenseitigen Verhalten der Pilze in vitro (auf Malzagar) kein Zusammenhang besteht. Auch in dieser Hinsicht liegen die Verhältnisse wirr durcheinander und sind für den einzelnen Fall gesondert zu prüfen.

C. Der Einfluß des präinfektionellen Zusammenlebens der Erreger auf den Erfolg der Mischinfektion

Im vorhergehenden Abschnitt wurden nur die Mischinfektionen besprochen, bei welchen die verschiedenen Erreger erst im Moment der Infektion miteinander in Kontakt kamen. Daß das präinfektionelle Zusammenleben der Pilze eine wichtige Rolle spielt, liegt auf der Hand, da die Erreger in natura während der Zeit ihres saprophytischen Lebensabschnittes wenigstens zum Teil auf den gleichen Stoppeln leben können.

I. Versuche mit einer Mehrzahl von verschiedenen Erregern

Die unten aufgeführten 32 Pilze und Pilzstämme wurden mit oder ohne *Ophiobolus graminis* Sacc. auf demselben Nährsubstrat (Kleie) während 21 Tagen bei Zimmertemperatur gezüchtet. Dabei wurden diese Pilze in folgende 4 Gruppen aufgeteilt und im Infektionsversuch mit und ohne *Ophiobolus graminis* geprüft:

Gruppe A: *Ophiobolus herpotrichus*, *Leptosphaeria linearis*, *L. nigrans*, *L. recutita*, *L. eustomoides*, *L. clavata*, *Pleospora infectoria*, *Pyrenophora trichostoma.*

Gruppe B: *Wojnowicia graminis* (4 Stämme), *Hendersonia aberrans.*

Gruppe C: *Gibberella Saubinetii*, *G. pulicaris*, *Fusarium* sp. (Gruppe *Sporotrichiella*), *F. tricinctum*, *F. scirpi*, *F. culmorum v. cereale*, *F. orthoceras v. longius*, *F. oxysporum*, *F. oxysporum v. aurantiacum*, *F. solani v. minus.*

Gruppe D: *Cercosporella herpotrichoides*, *Diplodina speltae*, *Ascochyta graminicola*, *Phoma raetica*, *Helminthosporium gramineum*, *Coniosporium arundinis*, *Torula graminis*, *Alternaria humicola.*

Die Infektionserfolge sind in der Tabelle 17 zusammengestellt.

Die Befallsstärke von *Ophiobolus graminis* Sacc. blieb sich in den Gruppen A, B und D gleich. Dagegen war eine starke Depression in der *Fusarium*gruppe (C) zu verzeichnen, ebenso in der Mischkultur, die sich aus sämtlichen 32 Erregern zusammensetzte.

In einem zweiten Versuch (Tabelle 18) resultierte der gleiche Schlußeffekt, wobei folgende Pilze zusammen auf Stroh gezüchtet wurden:

a) Stark pathogene Stämme: *Calonectria graminicola*, *Fusarium culmorum*, *Diplodina speltae*, *Coniothyrium cerealis.*

b) Mittelstark pathogene Stämme: *Ophiobolus herpotrichus*, *Leptosphaeria linearis*, *L. herpotrichoides*, *L. nigrans*, *L. eustomoides*, *Fusarium* sp. (Gruppe *Sporotrichiella*), *F. tricinctum*, *F. scirpi*, *F. culmorum v. cereale*,

F. oxysporum, *F. oxysporum v. aurantiacum*, *Wojnowicia graminis* (3 Stämme), *Hendersonia aberrans*, *Helminthosporium gramineum*.

c) Schwach pathogene Stämme: *Leptosphaeria recutita*, *L. clavata*, *Pyrenophora trichostoma*, *Gibberella Saubinetii*, *G. pulicaris*, *Phoma raetica*, *Ascochyta graminicola*, *Coniosporium arundinis*, *Torula graminis*, *Alternaria humicola*.

Tabelle 17

Infektionserfolge mit der Mischkultur verschiedener, auf Kleie gezüchteter Fußkrankheitserreger (Krankheitsindizes: K %). F-Test: P = 0,05: 2,0; P = 0,01: 2,6; Versuch: 34,3. t-Test: P = 0,05: 6,4; P = 0,01: 8,6

Verfahren (siehe Text)	K %
Nicht infiziert	23,9
Ophiobolus graminis allein	67,4
Gruppe A (8 Erreger) ohne *O. graminis*	61,0
Gruppe A (8 Erreger) mit *O. graminis*	69,4
Gruppe B (5 Erreger) ohne *O. graminis*	59,9
Gruppe B (5 Erreger) mit *O. graminis*	61,1
Gruppe C (11 Erreger) ohne *O. graminis*	44,0
Gruppe C (11 Erreger) mit *O. graminis*	41,3
Gruppe D (8 Erreger) ohne *O. graminis*	43,9
Gruppe D (8 Erreger) mit *O. graminis*	60,5
Sämtliche 32 Erreger ohne *O. graminis*	48,3
Sämtliche 32 Erreger mit *O. graminis*	45,1

Tabelle 18

Infektionserfolge mit der Mischkultur verschiedener auf Stroh gezüchteter Fußkrankheitserreger (Krankheitsindizes: K %). F-Test: P = 0,05: 5,2; P = 0,01: 11,4; Versuch: 151,4. t-Test: P = 0,05: 6,8; P = 0,01: 9,3

Verfahren (siehe Text)	K %
Nicht infiziert	1,7
Ophiobolus graminis Sacc. allein	68,5
Sämtliche Pilze ohne *O. graminis*	39,9
Sämtliche Pilze mit *O. graminis*	48,2

d) Apathogene Stämme: *Pleospora infectoria*, *Fusarium orthoceras v. longius*.

Diese beiden Sammelversuche deuten darauf hin, daß eine umfassende Durchseuchung des Bodens und der Getreidebestände mit Fußkrankheitserregern einer der Gründe sein kann, weshalb die Erträge bei langjährigem, ständigem Getreidebau auf demselben Acker auch ohne Fruchtwechsel mit der Zeit wieder ansteigen können (Kurvenschnitt III der Abb. 1).

II. Versuche mit Erregerpaaren

Die verschiedenen Erreger wurden einzeln oder zu zweien auf Kleie gezüchtet. Die Resultate sind nach den verschiedenen Reaktionstypen als Folge der Mischinfektion geordnet.

a) Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger"

Ophiobolus graminis Sacc. und *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt., zwei stark pathogene Fußkrankheitserreger, ergaben sowohl als Folge der Mischinfektion als auch der Infektion mit der Mischkultur einen, den Einzelinfektionen gegenüber indifferenten Befallsgrad (Tabelle 19).

Die Erkrankung durch die Mischinfektion von *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Wojnowicia graminis* (McAlp.) Sacc. verhielt sich gegenüber derjenigen durch die Einzelinfektionen indifferent (Tabelle 20). Dagegen verursachte die Infektion mit der Mischkultur eine Depression des Befallsgrades. Dieses Beispiel deutet darauf hin, daß Kombinationen des Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger" nach längerem präinfektionellem Zusammenleben in den Typus „Depression, gleichstarke Erreger" abgewandelt werden können.

Tabelle 19

Infektionserfolge nach 14 Tagen auf jungen Weizenpflanzen mit der frischen Mischung und einer 23 Tage alten Mischkultur von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt. (Krankheitsindizes: K %). F-Test: P = 0,05: 2,9; P = 0,01: 4,4; Versuch: 160,5. t-Test: P = 0,05: 2,9; P = 0,01: 3,9.

Verfahren	K %
Nicht infiziert	2,3
Ophiobolus graminis Sacc. allein	76,8
Diplodina speltae E. Mül. nov. spec. in litt. allein	95,0
Mischinfektion	95,1
Infektion mit der Mischkultur	86,3

Tabelle 20

Infektionserfolge nach 14 Tagen auf jungen Weizenpflanzen mit der frischen Mischung und einer 23 Tage alten Mischkultur von *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Wojnowicia graminis* (McAlp.) Sacc. (Krankheitsindizes: K %). F-Test: P = 0,05: 2,9; P = 0,01: 4,4; Versuch: 95,5. t-Test: P = 0,05: 5,0; P = 0,01: 6,6

Verfahren	K %
Nicht infiziert	2,3
Leptosphaeria eustomoides Sacc. allein	45,0
Wojnowicia graminis (McAlp.) Sacc. allein	46,9
Mischinfektion	54,9
Infektion mit der Mischkultur	23,3

b) Typus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger"

Tabelle 21

Infektionserfolge nach 14 Tagen auf jungen Weizenpflanzen mit der frischen Mischung und einer 23 Tage alten Mischkultur von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc. (Krankheitsindizes: K %). F-Test: P = 0,05: 2,9; P = 0,01: 4,4; Versuch: 278,0. t-Test: P = 0,05: 5,8; P = 0,01: 7,7.

Verfahren	K %
Nicht infiziert	2,3
Ophiobolus graminis Sacc. allein	78,6
Ophiobolus herpotrichus (Fr.) Sacc. allein	58,3
Mischinfektion	80,6
Infektion mit der Mischkultur	71,1

Tabelle 22

Infektionserfolge nach 14 Tagen auf jungen Weizenpflanzen mit der frischen Mischung und einer 23 Tage alten Mischkultur von *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. und *Leptosphaeria recutita* (Fuck.) E. Mül. (Krankheitsindizes: K %). F-Test: P = 0,05: 2,9; P = 0,01: 4,4; Versuch: 10,7: t-Test: P = 0,05: 6,8; P = 0,01: 9,1.

Verfahren	K %
Nicht infiziert	2,3
Ophiobolus herpotrichus (Fr.) Sacc. allein	58,3
Leptosphaeria recutita (Fuck.) E. Mül. allein	39,6
Mischinfektion	62,0
Infektion mit der Mischkultur	39,7

Die Infektion mit der Mischkultur von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc. verhielt sich wie die Mischinfektion dieser beiden Pilze indifferent, wobei der stärkere Erreger „den Ton angibt" (Tabelle 21).

Aber auch bei diesem Typus können Fälle vorkommen, in welchem die Mischinfektion „Indifferenz" anzeigt, die Infektion mit der Mischkultur dagegen eine Depression des Befallsgrades zur Folge hat. Als Beispiel hierfür kann die Kombination von *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. und *Leptosphaeria recutita* (Fuck.) E. Mül. (Tabelle 22) dienen.

c) Typus „Depression, gleichstarke Erreger"

Leptosphaeria eustomoides Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh. verursachen eine starke Depression des Krankheitsgrades gegenüber den entsprechenden Einzelinfektionen, wenn sie zusammen, in frischer Mischung, den Wirt befallen. Die Mischkultur der beiden Pilze vermag überhaupt keine Infektion mehr auszulösen; der Index liegt gleich hoch wie derjenige der nicht infizierten Kontrollreihe (Tabelle 23).

Die Mischinfektion von *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. und *Leptosphaeria nigrans* (Desm.) Ces. et de Not., deren Pathogenität gegenüber früheren Versuchen abgenommen hat, war gleichstark wie die Einzelinfektion mit *O. herpotrichus* und zeigt deshalb den Typus „Indifferenz" an. Die Mischkultur dagegen vermochte nur noch schwach zu infizieren (Tabelle 24).

Tabelle 23

Infektionserfolge nach 15 Tagen auf jungen Weizenpflanzen mit der frischen Mischung und einer 23 Tage alten Mischkultur von *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh. (Krankheitsindizes: K %). F-Test: P = 0,05: 2,9; P = 0,01: 4,4; Versuch: 229,2. t-Test: P = 0,05: 4,1; P = 0,01: 5,6

Verfahren	K %
Nicht infiziert	11,5
Leptosphaeria eustomoides Sacc. allein	51,1
Helminthosporium gramineum Rabh. allein	54,9
Mischinfektion	21,3
Infektion mit der Mischkultur	12,5

Tabelle 24

Infektionserfolge nach 14 Tagen auf jungen Weizenpflanzen mit der frischen Mischung und einer 23 Tage alten Mischkultur von *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. und *Leptosphaeria nigrans* (Desm.) Ces. et de Not. (Krankheitsindizes: K %). F-Test: P = 0,05: 2,9; P = 0,01: 4,4; Versuch: 22,0. t-Test: P = 0,05: 15,2; P = 0,01: 20,3

Verfahren	K %
Nicht infiziert	2,3
Ophiobolus herpotrichus (Fr.) Sacc. allein	58,3
Leptosphaeria nigrans (Desm.) Ces. et de Not. allein	22,7
Mischinfektion	58,4
Infektion mit der Mischkultur	13,1

d) Typus „Depression, ungleichstarke Erreger"

Beide hier angeführten Beispiele weisen darauf hin, daß dieselben Vorkommnisse zu erwarten sind, wie sie bei den ersten beiden Beispielen des Typus „Depression" durch gleichstarke Erreger angetroffen wurden. — Sowohl *Ophiobolus graminis* Sacc. + *Pleospora infectoria* Fuck. (Tabelle 25) als auch *O. graminis* + *Ascochyta graminicola* Sacc. (Tabelle 26) zeigten nach der Mischinfektion noch einen gleichstarken Befallsgrad wie die entsprechende Einzelinfektion des stärkeren Erregers. Dagegen erfuhr der Krankheitsgrad als Folge der Infektion mit der Mischkultur je eine Depression, deren Werte zwischen diejenigen der entsprechenden Einzelinfektionen zu liegen kommen.

Tabelle 25

Infektionserfolge nach 14 Tagen auf jungen Weizenpflanzen mit der frischen Mischung und einer 23 Tage alten Mischkultur von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Pleospora infectoria* Fuck. (Krankheitsindizes: K %). F-Test: P = 0,05: 2,9; P = 0,01: 4,4; Versuch: 216,4. t-Test: P = 0,05: 6,5; P = 0,01: 8,6

Verfahren	K %
Nicht infiziert	2,3
Ophiobolus graminis Sacc. allein	78,6
Pleospora infectoria Fuck. allein	21,5
Mischinfektion	71,5
Infektion mit der Mischkultur	39,4

Tabelle 26

Infektionserfolge nach 14 Tagen auf jungen Weizenpflanzen mit der frischen Mischung und einer 23 Tage alten Mischkultur von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Ascochyta graminicola* Sacc. (Krankheitsindizes: K %). F-Test: P = 0,05: 2,9; P = 0,01: 4,4; Versuch: 201,1. t-Test: P = 0,05: 7,0; P = 0,01: 9,3

Verfahren	K %
Nicht infiziert	2,3
Ophiobolus graminis Sacc. allein	78,6
Ascochyta graminicola Sacc. allein	28,0
Mischinfektion	79,7
Infektion mit der Mischkultur	51,9

e) Typus „Verstärkung"

Sowohl die Mischinfektion der beiden mittelstark pathogenen Erreger *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr. (Tabelle 27) als auch die Infektion mit der Mischkultur dieser beiden Pilze hatte eine Verstärkung des Befallsgrades gegenüber den Einzelinfektionen zur Folge.

Tabelle 27

Infektionserfolge nach 14 Tagen auf jungen Weizenpflanzen mit der frischen Mischung und einer 23 Tage alten Mischkultur von *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr. (Krankheitsindizes: K %). F-Test: P = 0,05: 2,9; P = 0,01: 4,4; Versuch: 197,7. t-Test: P = 0,05: 5,6; P = 0,01: 7,4

Verfahren	K %
Nicht infiziert	2,3
Gibberella Saubinetii (Mont.) Sacc. allein	48,8
Hendersonia aberrans Petr. allein	44.8
Mischinfektion	65.5
Infektion mit der Mischkultur	68,1

Tabelle 28

Infektionserfolge nach 14 Tagen auf jungen Weizenpflanzen mit der frischen Mischung und einer 23 Tage alten Mischkultur von *Leptosphaeria recutita* (Fuck.) E. Mül. und *L. clavata* Guyot. (Krankheitsindizes: K %). F-Test: P = 0,05: 2,9; P = 0,01: 4,4; Versuch: 191,6. t-Test: P = 0,05: 5,2; P = 0,01: 7,0

Verfahren	K %
Nicht infiziert	2,3
Leptosphaeria recutita (Fuck.) E. Mül. allein	39.6
Leptosphaeria clavata Guyot allein	15,6
Mischinfektion	60,5
Infektion mit der Mischkultur	30,7

Die Infektionen mit *Leptosphaeria recutita* (Fuck.) E. Mül. und *Leptosphaeria clavata* Guyot in frischer Mischung verursachte eine Verstärkung des Krankheitsgrades. Wenn sie dagegen auf demselben Nährboden (Kleie) gezüchtet werden, so vermag die Mischkultur eine kaum so starke Infektion auszulösen als der stärkere der beiden Erreger in Einzelinfektion (Tabelle 28). Dieses Beispiel weist darauf hin, daß beim Typus „Verstärkung" Fälle vorkommen können, in welchen das präinfektionelle Zusammenleben der beiden Partner eine Abänderung dieses Reaktionstypus in „Indifferenz", eventuell auch in „Depression" zur Folge haben kann.

Durch das präinfektionelle Zusammenleben verschiedener Erreger kann nach diesen Untersuchungen in gewissen Fällen eine Abänderung des Reaktionstypus, der durch die frische Mischung verursacht wird, eintreten. Ob diese Verschiebung für zwei bestimmte Erreger spezifisch ist, kann mit diesen Versuchen nicht entschieden werden. Die gegenseitige Beeinflussung kann auch nur als Funktion der Zeit der gegenseitigen Einwirkung zweier Erreger aufgefaßt werden.

D. Untersuchungen über Primär- und Sekundärerkrankungen

Bei den echten Mischinfektionen und den Infektionen mit der Mischkultur ist den Partnern Gelegenheit gegeben, gleichzeitig in den Wirt einzudringen. In diesem Kapitel wird die Frage der Vor- und Nachinfektion zweier verschiedener Erreger an Hand je eines Beispieles für die verschiedenen, in den vorhergehenden Abschnitten besprochenen Reaktionstypen bei Erregergemischen behandelt. Dabei wurde so vorgegangen, daß der Primärinfekt die junge Wirtspflanze ungehindert infizieren und sich im Wirt während einiger Tage ausbreiten konnte. Dann erfolgte die Superinfektion mit einem zweiten, anders-

artigen Erreger. Die Kontrolle der Folgeerkrankung wurde erst nach Ablauf der doppelten Zeitperiode — verglichen mit derjenigen, die für die Primärerkrankung zur Verfügung stand — vorgenommen. Im Zeitpunkte der Superinfektion wurde jeweils die Stärke des Krankheitsbefalles als Folge der Primärinfektion testiert. — Die Resultate sind wiederum nach den verschiedenen Reaktionstypen, die durch Erregergemische verursacht werden, geordnet.

I. Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger"

Ophiobolus graminis Sacc. und *Diplodina speltae* E. Mül. spec. nov. in litt., zwei gleichstarke Erreger, beeinflussen sich bei der echten Mischinfektion nicht. *O. graminis* erreichte in Einzelinfektion nach 7 Tagen einen Krankheitsindex von 39,6%, nach 21 Tagen — bei ungestörter Infektion — einen solchen von 62,2% (Tabelle 29, Abb. 8), *D. speltae* einen solchen von 33,5% nach 7 Tagen und 66,3% nach 21 Tagen. Werden nach 7 Tagen die Pflanzen, die mit *O. graminis* vorinfiziert wurden, mit *D. speltae* nachinfiziert, so erreicht der Wert des Krankheitsindexes nach 21 Tagen ungefähr die gleiche Höhe wie bei der ungestörten Einzelinfektion mit *O. graminis* oder *D. speltae*. Dasselbe ist bei den Pflanzen zu beobachten, die mit *D. speltae* vor- und mit *O. graminis* nachinfiziert wurden. Es zeigt sich hier, daß der Reaktionstypus beibehalten wird, wie wenn es sich um eine echte Mischinfektion handeln würde: Auch bei der Primär- und Sekundärerkrankung beeinflussen sich diese beiden Erreger nicht.

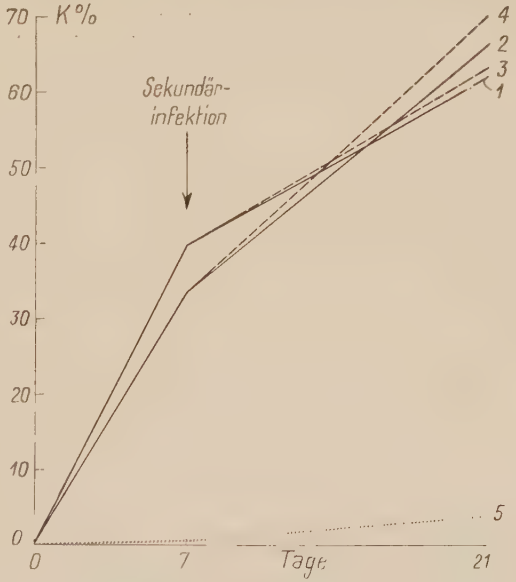


Abb. 8. Einfluß der Primär- auf die Sekundärerkrankung durch *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt. auf Weizen (Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger"). Abszisse: Zeit; Ordinate: Krankheitsindizes K %. Kurve 1: *O. graminis* allein. Kurve 2: *D. speltae* allein. Kurve 3: Primärinfektion mit *O. graminis*, Sekundärinfektion mit *D. speltae*. Kurve 4: Primärinfektion mit *D. speltae*, Sekundärinfektion mit *O. graminis*. Kurve 5: Nicht infizierte Pflanzen

II. Typus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger"

Dasselbe wie beim ersten Beispiel ist auch bei der Primär- und Sekundärinfektion mit den beiden ungleichstarken Erregern *Ophiobolus graminis* Sacc. und *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc. zu beobachten (Tabelle 30, Abb. 9). Diese beiden Erreger beeinflussen sich ebensowenig. Der Reaktionstypus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger" wird auch hier bei der Primär- und Sekundärinfektion beibehalten, und zwar ist es gleichgültig, ob der stärkere oder der schwächere Erreger die Pflanze vorinfiziert.

Tabelle 29

Primär- und Sekundärinfektionen mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt. Die Sekundärinfektion erfolgte 7 Tage, die Schlußkontrolle 21 Tage nach der Primärinfektion

Verfahren	Krankheitsindizes: K %	
	nach 7 Tagen	nach 21 Tagen
Nicht infiziert	0,4	3,9
Ophiobolus graminis Sacc. allein	39,6	62,2
Diplodina speltae E. Mül. nov. spec. in litt. allein . .	33,5	66.3
Primärinfektion: *O. graminis*	(39,6)	—
Sekundärinfektion: *D. speltae*	—	63,5
Primärinfektion: *D. speltae*	(33,5)	—
Sekundärinfektion: *O. graminis*	—	70,4
F-Test: P = 0,05:	3,9	2,9
P = 0,01:	6.9	4,4
Versuch:	740,3	58,9
t-Test: P = 0,05:	2,1	10,1
P = 0.01:	3,0	14,0

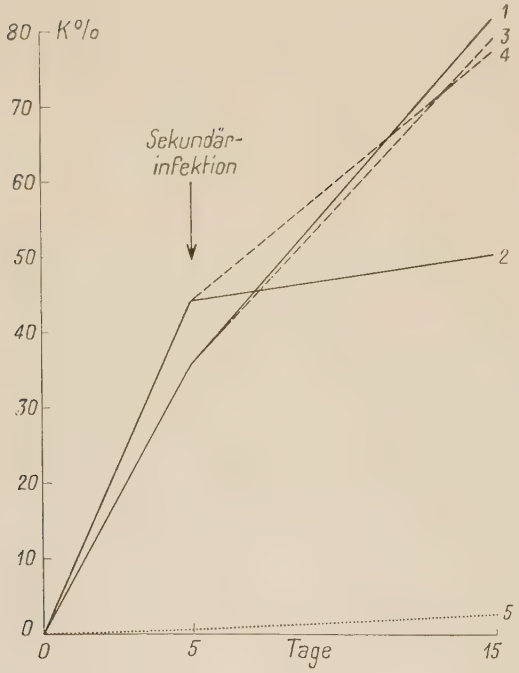


Abb. 9. Einfluß der Primär- auf die Sekundärerkrankung durch *Ophiobolus graminis* Sacc. und *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc. auf Weizen (Typus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger"). Abszisse: Zeit, Ordinate: Krankheitsindizes K %. Kurve 1: *O. graminis* allein. Kurve 2: *O. herpotrichus* allein. Kurve 3: Primärinfektion mit *O. graminis*, Sekundärinfektion mit *O. herpotrichus*. Kurve 4: Primärinfektion mit *O. herpotrichus*, Sekundärinfektion mit *O. graminis*. Kurve 5: Nicht infizierte Pflanzen

Tabelle 30

Primär- und Sekundärinfektionen mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc. Die Sekundärinfektion erfolgte 7 Tage, die Schlußkontrolle 21 Tage nach der Primärinfektion

Verfahren	Krankheitsindizes: K %	
	nach 7 Tagen	nach 21 Tagen
Nicht infiziert . . .	0,6	2,5
Ophiobolus graminis Sacc. allein . . .	36,1	81,5
Ophiobolus herpotrichus (Fr.) Sacc. allein	44,1	50,1
Primärinfektion: *O. graminis* . . .	(36,1)	—
Sekundärinfektion: *O. herpotrichus* . .	—	78,8
Primärinfektion: *O. herpotrichus* . .	(44,1)	—
Sekundärinfektion: *O. graminis* . . .	—	77,1
F-Test: P = 0.05:	3,9	2,9
P = 0,01:	6,9	4,4
Versuch:	432,6	93,9
t-Test: P = 0,05:	4,4	9.9
P = 0,01:	6,2	13.8

III. Typus „Depression, gleichstarke Erreger"

Auch das Beispiel mit *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh., zwei gleichstarken Erregern, folgt dem Typus, den die Erkrankung durch das Gemisch dieser beiden Erreger bei gleichzeitiger Infektion bestimmt. Es ist gleichgültig, ob *L. eustomoides* oder *H. gramineum* die Wirtspflanze vorinfiziert. Die Nachinfektion mit dem entsprechenden Gegenpilz *H. gramineum* bzw. *L. eustomoides* bewirkt eine Depression des Befallsgrades. Die Wirtspflanzen erholen sich nach der Sekundärinfektion (Tabelle 31, Abb. 10).

Tabelle 31

Primär- und Sekundärinfektionen mit *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh. Die Sekundärinfektion erfolgte 5 Tage, die Schlußkontrolle 15 Tage nach der Primärinfektion

Verfahren	Krankheitsindizes: K %	
	nach 5 Tagen	nach 15 Tagen
Nicht infiziert . . .	0,6	2,5
Leptosphaeria eustomoides Sacc. allein	43,3	51.2
Helminthosporium gramineum Rabh. allein	42,0	51,0
Primärinfektion: *L. eustomoides* . . .	(43,3)	—
Sekundärinfektion: *H. gramineum* . . .	—	30,4
Primärinfektion: *H. gramineum* . . .	(42,0)	—
Sekundärinfektion: *L. eustomoides* . . .	—	32,3
F-Test: P = 0,05:	3,9	2.9
P = 0,01:	6,9	4,4
Versuch:	420,5	67,7
t-Test: P = 0,05:	2.5	7,0
P = 0,01:	3 6	9,8

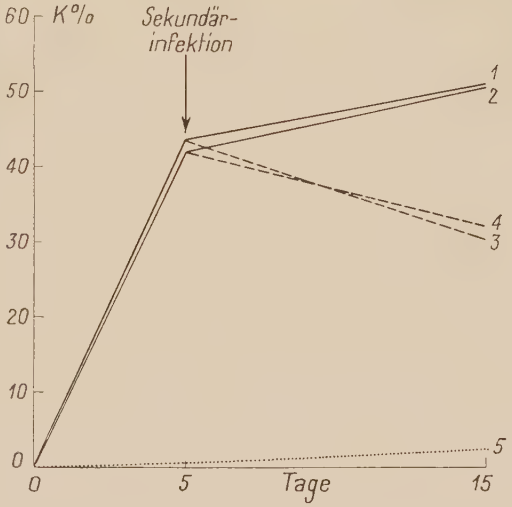


Abb. 10. Einfluß der Primär- auf die Sekundärerkrankung durch *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh. auf Weizen (Typus „Depression gleichstarke Erreger"). Abszisse: Zeit; Ordinate: Krankheitsindizes K %. Kurve 1: *L. eustomoides* allein. Kurve 2: *H. gramineum* allein. Kurve 3: Primärinfektion mit *L. eustomoides*, Sekundärinfektion mit *H. gramineum*. Kurve 4: Primärinfektion mit *H. gramineum*, Sekundärinfektion mit *L. eustomoides*. Kurve 5: Nicht infizierte Pflanzen

IV. Typus „Depression, ungleichstarke Erreger"

Gleiche Resultate ergeben die beiden ungleichstarken Erreger *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Ascochyta graminicola* Sacc. Sowohl die Primärinfektion mit *O. graminis* und die Sekundärinfektion mit *A. graminicola* als auch die Primärinfektion mit *A. graminicola* und die Sekundärinfektion mit *O. graminis* ergeben gegenüber der Erkrankung durch *O. graminis* allein eine starke Depression des Befallsgrades (Tabelle 32, Abb. 11). Auch bei diesem Beispiel bleibt der Reaktionstypus bestehen.

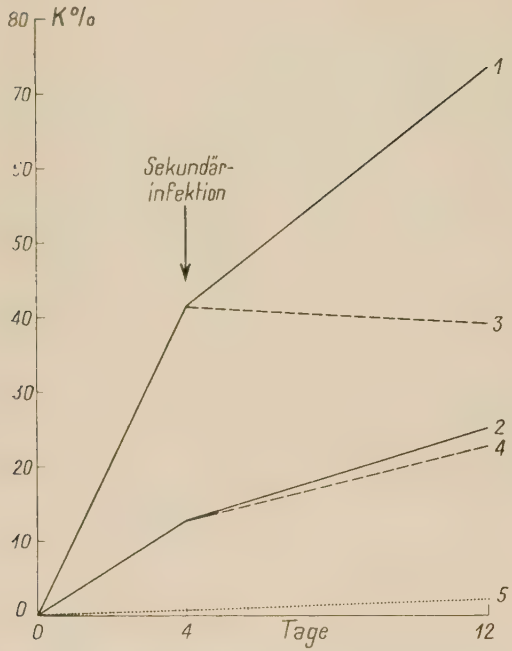


Abb. 11. Der Einfluß der Primär- auf die Sekundärerkrankung durch *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Ascochyta graminicola* Sacc. auf Weizen (Typus „Depression, ungleichstarke Erreger"). Abszisse: Zeit; Ordinate: Krankheitsindizes K %. Kurve 1: *O. graminis* allein. Kurve 2: *A. graminicola* allein. Kurve 3: Primärinfektion mit *O. graminis*, Sekundärinfektion mit *A. graminicola*. Kurve 4: Primärinfektion mit *A. graminicola*, Sekundärinfektion mit *O. graminis*. Kurve 5: Nicht infizierte Pflanzen

Tabelle 32

Primär- und Sekundärinfektionen mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Ascochyta graminicola* Sacc. Die Sekundärinfektion erfolgte 4 Tage, die Schlußkontrolle 12 Tage nach der Primärinfektion

Verfahren	Krankheitsindizes: K %	
	nach 4 Tagen	nach 12 Tagen
Nicht infiziert . . .	0,6	1,8
Ophiobolus graminis Sacc. allein . . .	41,3	72,7
Ascochyta graminicola Sacc. allein .	12,5	24,7
Primärinfektion: *O. graminis* . . .	(41.3)	—
Sekundärinfektion: *A. graminicola* . .	—	38,7
Primärinfektion: *A. graminicola* . .	(12,5)	—
Sekundärinfektion: *O. graminis* . . .	—	22,4
F-Test: P = 0,05:	3,9	2.9
P = 0,01:	6,9	4,4
Versuch:	2430,1	9865,1
t-Test: P = 0,05:	1,3	2,5
P = 0,01:	1,8	3,4

V. Typus „Verstärkung"

Gibberella Saubinetii (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr. ergeben bei gegenseitiger Folgeinfektion eine Verstärkung des Befallsgrades gegenüber den Einzelinfektionen. Der Reaktionstypus „Verstärkung" erfährt auch bei der Primär- und Sekundärerkrankung keine Veränderung (Tabelle 33, Abb. 12).

Tabelle 33

Primär- und Sekundärinfektionen mit *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr. Die Sekundärinfektion erfolgte 7 Tage, die Schlußkontrolle 21 Tage nach der Primärinfektion

Verfahren	Krankheitsindizes K %	
	nach 7 Tagen	nach 21 Tagen
Nicht infiziert	0,4	3.9
Gibberella Saubinetii (Mont.) Sacc. allein	53,0	51,8
Hendersonia aberrans Petr. allein	41.2	45,4
Primärinfektion: *G. Saubinetii*	(53,0)	—
Sekundärinfektion: *H. aberrans*	—	66,4
Primärinfektion: *H. aberrans*	(41,2)	—
Sekundärinfektion: *G. Saubinetii*	—	52,3
F-Test: P = 0,05:	3,9	2,9
P = 0,01:	6,9	4,4
Versuch:	852,3	274,5
t-Test: P = 0,05:	2,8	4,2
P = 0,01:	4,0	5,7

Für die erwähnten Beispiele der verschiedenen Reaktionstypen ist es belanglos, ob die Erreger zu gleicher Zeit in den Wirt eindringen, oder ob dieser durch den einen Erreger vor- und durch den andern nach Verlauf einiger Tage nachinfiziert wird; der Reaktionstypus, wie er durch die Mischinfektion charakterisiert wird, bleibt erhalten.

E. Untersuchungen über den Mechanismus der Mischinfektionen für die verschiedenen Reaktionstypen

Im vorliegenden Kapitel werden für die verschiedenen Reaktionstypen, die bei der Infektion mit Erregergemischen auftreten,

I. die stoffliche Beeinflussung der Infektiosität des einen Erregers durch einen zweiten an Hand von Kulturfiltratversuchen,
II. der zeitliche Verlauf der Erkrankung durch Erregergemische,
III. der Einfluß der Temperatur auf den Grad des Befalles durch Erregergemische und
IV. das Verhalten von Erregergemischen auf verschiedenen Wirtspflanzen diskutiert.

I. Die stoffliche Beeinflussung der Infektiosität (Kulturfiltrate)

Für die Kulturfiltratversuche wuchsen die Pilze auf einer Nährlösung (Knop + 2% Malzextrakt). Jedem Kolben wurde Glaswolle beigegeben, um ein Absinken der Impfstücke zu verhindern und dem wachsenden Myzel eine Stütze zu geben. Die Kulturfiltratlösungen wurden mit Hilfe von Entkeimungsfiltern (Seitz-E. K.) unter Verwendung von komprimiertem Stickstoff gewonnen und mit den zu prüfenden Gegenpilzen beimpft. Als Kontrollen dienten entsprechende Einzel- und Mischkulturen, die auf einer gleich zusammengesetzten, jedoch frischen Nährlösung wuchsen. Die Infektion der jungen Weizenpflanzen erfolgte wiederum auf sterilem Ziegelgrus, indem die vorgekeimten Körner auf die nicht ausgewaschenen Myzelien samt Glaswolle ausgelegt und mit sterilem Ziegelgrus überdeckt wurden.

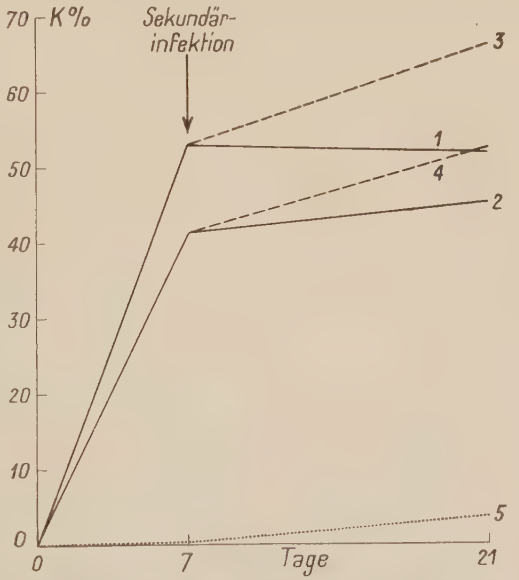


Abb. 12. Einfluß der Primär- auf die Sekundärerkrankung durch *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr. auf Weizen (Typus „Verstärkung"). Abszisse: Zeit; Ordinate: Krankheitsindizes K %. Kurve 1: *G. Saubinetii* allein. Kurve 2: *H. aberrans* allein. Kurve 3: Primärinfektion mit *G. Saubinetii* allein. Sekundärinfektion mit *H. aberrans*. Kurve 4: Primärinfektion mit *H. aberrans*, Sekundärinfektion mit *G. Saubinetii*. Kurve 5: Nicht infizierte Pflanzen

a) Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger"

Wird *Wojnowicia graminis* (McAlp.) Sacc. auf dem Kulturfiltrat von *Leptosphaeria eusto-*

moides Sacc. gezüchtet und zu Infektionen verwendet, so resultiert ein gleichstarker Befall, wie wenn der Pilz auf der normalen Nährlösung gewachsen wäre. Dagegen erfährt *L. eustomoides*, wenn dieser Erreger vor der Infektion auf dem Kulturfiltrat von *W. graminis* wuchs, eine starke Abschwächung der Pathogenität (Tabelle 34).

Tabelle 34

Kulturfiltratversuche mit *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Wojnowicia graminis* (McAlp.) Sacc. (Krankheitsindizes: K %; Kf. = Kulturfiltrat). F-Test: P = 0,05: 2,2; P = 0,01: 3,0; Versuch: 117,5. t-Test: P = 0,05: 4,0; P = 0,01: 5,3

Verfahren	K %	Reaktionstypus
Nicht infiziert	1,7	
Leptosphaeria eustomoides Sacc. allein	33,9	
Wojnowicia graminis (McAlp.) Sacc. allein	27,7	
Mischinfektion	34,1	Indifferenz
Infektion mit der Mischkultur	32,5	Indifferenz
W. graminis auf Kf. von *L. eustomoides*	32,1	Indifferenz
L. eustomoides auf Kf. von *W. graminis*	8,7	Depression

Ein anderes Resultat ergibt sich beim Beispiel *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt. Die Pathogenität von *O. graminis* wird durch die verwendete, reine Nährlösung nicht beeinflußt. Dagegen erfährt *D. speltae* durch Kultivierung auf der reinen Nährlösung eine Abschwächung der Pathogenität. Wächst dieser Pilz präinfektionell auf Kleie, so vermag er auf der Wirtspflanze eine starke Erkrankung auszulösen. Stammt dagegen das Infektionsmaterial aus der verwendeten Nährlösung, so ist die Erkrankung nur noch schwach bis mittelstark. Bei der Mischinfektion — unter der Voraussetzung der Kultivierung auf dieser Nährlösung — ergibt sich eine Depression des Befallsgrades gegenüber der Einzelinfektion mit *O. graminis*. Die Infektion mit der Mischkultur der beiden Pilze lieferte dasselbe Resultat (Tabelle 35). (Wird als Nährboden Kleie verwendet, so verhalten sich die Pilze in Mischung indifferent.) Wird *O. graminis* auf dem Kulturfiltrat von *D. speltae* kultiviert, so verliert er zum Teil seine Pathogenität. *D. speltae*, auf dem Kulturfiltrat von *O. graminis* gezüchtet, verändert sich hinsichtlich der Pathogenität nicht wesentlich. Daß die Pathogenität von parasitischen Pilzen durch die Zusammensetzung des Kultursubstrates beeinflußt werden kann, ist bekannt, und daß dieses Problem für den Mechanismus der Mischinfektionen von Bedeutung sein kann, zeigt dieses Beispiel.

Tabelle 35

Kulturfiltratversuche mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt. (Krankheitsindizes: K %; Kf. = Kulturfiltrat). F-Test: P = 0.05: 2,2; P = 0,01: 3,0; Versuch: 289,1. t-Test: P = 0,05: 3,6; P = 0,01: 4,9

Verfahren	K %	Reaktionstypus
Nicht infiziert	1,5	
Ophiobolus graminis Sacc. allein	75,6	
Diplodina speltae E. Mül. nov. spec in litt. allein	33,0	(siehe Text)
Mischinfektion	62,6	Depression
Infektion mit der Mischkultur	44,8	Depression
O. graminis auf Kf. von *D. speltae*	28,1	Depression
D. speltae auf Kf. von *O. graminis*	41,4	± Indifferenz

b) Typus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger"

Die Infektionserfolge von *Ophiobolus graminis* Sacc. allein, der Mischinfektion von *O. graminis* und *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc. sowie der Infektion mit der Mischkultur dieser beiden Pilze wiesen nach dem t-Test keine Unterschiede auf. Ebensowenig sind Unterschiede zwischen dem Befallsgrad der Mischinfektion und demjenigen der Infektion mit der Mischkultur gegenüber der Infektion mit *O. graminis*, wenn dieser Pilz vorher auf dem Kulturfiltrat von *O. herpotrichus* gezüchtet wurde, festzustellen (Tabelle 36). Der Unterschied von „*O. graminis* allein" und „*O. graminis* auf Kf. von *O. herpotrichus*" ist aus diesen Gründen nicht als sicher hinzunehmen. Wahrscheinlich findet nur eine schwache Beeinflussung von *O. graminis* durch *O. herpotrichus* statt, wie es für *O. herpotrichus* durch *O. graminis* beobachtet werden kann.

Tabelle 36

Kulturfiltratversuche mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc. (Krankheitsindizes: K %; Kf. = Kulturfiltrat). F-Test: P = 0,05: 2,2; P = 0,01: 3,0; Versuch: 37,1. t-Test: P = 0,05: 11,8; P = 0,01: 16,1

Verfahren	K %	Reaktionstypus
Nicht infiziert	1,5	
Ophiobolus graminis Sacc. allein	83,3	
Ophiobolus herpotrichus (Fr.) Sacc. allein	41,5	
Mischinfektion	74,1	Indifferenz
Infektion mit der Mischkultur	70,8	Indifferenz
O. graminis auf Kf. von *O. herpotrichus*	62,7	+ Depression
O. herpotrichus auf Kf. von *O. graminis*	36,3	Indifferenz

In einem zweiten Beispiel mit *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. und *Leptosphaeria recutita* (Fuck.) E. Mül. war keine gegenseitige Beeinflussung weder bei der Erkrankung durch die Mischinfektion noch durch die Infektion mit der Mischkultur zu beobachten. Der Erfolg der Einzelinfektionen mit den einzelnen Pilzen bleibt sich auch dann gleich, wenn der eine präinfektionell auf dem Kulturfiltrat des andern wuchs (Tabelle 37).

Tabelle 37

Kulturfiltratversuche mit *Ophiobolus herpotrichus* (Fr. Sacc.) und *Leptosphaeria recutita* (Fuck.) E. Mül. (Krankheitsindizes: K %; Kf. = Kulturfiltrat). F-Test: P = 0,05: 2,2; P = 0,01: 3,0; Versuch: 643.3. t-Test: P = 0,05: 1,7; P = 0,01: 2,3

Verfahren	K %	Reaktionstypus
Nicht infiziert	1,2	
Leptosphaeria recutita (Fuck.) E. Mül. allein	18,9	
Ophiobolus herpotrichus (Fr.) Sacc. allein	43,4	
Mischinfektion	40,4	Indifferenz
Infektion mit der Mischkultur	40,5	Indifferenz
O. herpotrichus auf Kf. von *L. recutita*	41,2	Indifferenz
L. recutita auf Kf. von *O. herpotrichus*	17,4	Indifferenz

c) Typus „Depression, gleichstarke Erreger"

Helminthosporium gramineum Rabh. und *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. beeinflussen sich gegenseitig so stark, daß keiner der beiden Erreger

mehr zu infizieren vermag, wenn der eine Pilz auf dem Kulturfiltrat des andern wuchs (Tabelle 38).

Tabelle 38

Kulturfiltratversuche mit *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh. (Krankheitsindizes: K %; Kf. = Kulturfiltrat). F-Test: P = 0,05: 2,2; P = 0,01: 3.0; Versuch: 193,9. t-Test: P = 0,05: 2,8; P = 0,01: 3,8

Verfahren	K %	Reaktionstypus
Nicht infiziert	1,7	
Leptosphaeria eustomoides Sacc. allein	33,9	
Helminthosporium gramineum Rabh. allein	34,1	
Mischinfektion	5,9	Depression
Infektion mit der Mischkultur	2,7	Depression
L. eustomoides auf Kf. von *H. gramineum*	2,4	Depression
H. gramineum auf Kf. von *L. eustomoides*	3,0	Depression

Dasselbe ist bei den Pilzen *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. und *Leptosphaeria nigrans* (Desm.) Ces. et de Not. zu beobachten (Tabelle 39). Allerdings ist hier die gegenseitige Beeinflussung nicht derart ausgeprägt wie im ersten Beispiel; es kommt noch eine schwache bis mittelstarke Infektion zustande.

Tabelle 39

Kulturfiltratversuche mit *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. und *Leptosphaeria nigrans* (Desm.) Ces. et de Not. (Krankheitsindizes: K %; Kf = Kulturfiltrat). F-Test: P = 0,05: 2,2; P = 0,01: 3,0; Versuch: 66,0. t-Test: P = 0,05: 5,3; P = 0,01 : 7,1

Verfahren	K %	Reaktionstypus
Nicht infiziert	2,2	
Ophiobolus herpotrichus (Fr.) Sacc. allein	54,0	
Leptosphaeria nigrans (Desm.) Ces. et de Not. allein	49,0	
Mischinfektion	30,5	Depression
Infektion mit der Mischkultur	36,8	Depression
L. nigrans auf Kf. von *O. herprotrichus*	31,0	Depression
O. herpotrichus auf Kf. von *L. nigrans*	24,8	Depression

d) Typus „Depression, ungleichstarke Erreger"

Wächst *Ophiobolus graminis* Sacc. auf dem Kulturfiltrat von *Ascochyta graminicola* Sacc., so verliert er seine Pathogenität derart, daß er kaum noch zu infizieren vermag, was auch bei der Infektion mit der Mischkultur und — etwas weniger ausgesprochen — auch bei der Mischinfektion zu beobachten ist. Der Krankheitsindex des schwach pathogenen Erregers (*A. graminicola*) erfährt eine leichte Depression, wenn der Pilz auf dem Kulturfiltrat von *O. graminis* wuchs (Tabelle 40, Abb. 13).

Ein zweites Beispiel mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Pleospora infectoria* Fuck. zeigt prinzipiell dasselbe (Tabelle 41).

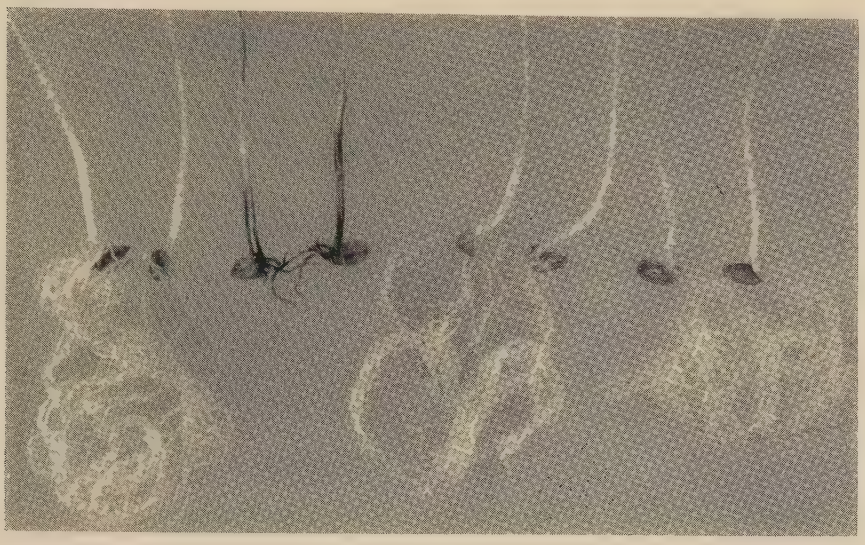


Abb. 13. Ausschnitt aus einem Kulturfiltratversuch vom Typus „Depression, ungleichstarke Erreger". Von links nach rechts: Zwei nicht infizierte Pflanzen. — Zwei Pflanzen mit *Ophiobolus graminis* Sacc. infiziert (starke Infektion); *O. graminis* wurde auf frischer Nährlösung gezüchtet. — Zwei Pflanzen mit *Ascochyta graminicola* Sacc. infiziert (schwache Infektion); *A. graminicola* wurde auf frischer Nährlösung gezüchtet. — Zwei Pflanzen infiziert mit *O. graminis*, der auf dem Kulturfiltrat von *A. graminicola* wuchs (schwache Infektion). (Phot. Dr. F. Bachmann.)

Tabelle 40

Kulturfiltratversuche mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Ascochyta graminicola* Sacc. (Krankheitsindizes: K%; Kf. = Kulturfiltrat). F-Test: P = 0,05 : 2,2; P = 0,01 : 3,0; Versuch: 384,7. t-Test: P = 0,05 : 3,2; P = 0,01 : 4,4

Verfahren	K %	Reaktionstypus
Nicht infiziert	2,2	
Ophiobolus graminis Sacc. allein	77,3	
Ascochyta graminicola Sacc. allein	24,6	
Mischinfektion	38,7	Depression
Infektion mit der Mischkultur	16,6	Depression
O. graminis auf Kf. von *A. graminicola*	16,8	Depression
A. graminicola auf Kf. von *O. graminis*	16,1	Depression

Tabelle 41

Kulturfiltratversuche mit *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Pleospora infectoria* Fuck. (Krankheitsindizes: K%; Kf. = Kulturfiltrat). F-Test: P = 0,05 : 2,2; P = 0,01 : 3,0; Versuch: 38,8. t-Test: P = 0,05 : 12,6; P = 0,01 : 17,1

Verfahren	K %	Reaktionstypus
Nicht infiziert	1,5	
Ophiobolus graminis Sacc. allein	83,3	
Pleospora infectoria Fuck. allein	4,9	
Mischinfektion	44,3	Depression
Infektion mit der Mischkultur	46,7	Depression
O. graminis auf Kf. von *P. infectoria*	32,9	Depression
P. infectoria auf Kf. von *O. graminis*	2,2	Indifferenz

e) Typus „Verstärkung"

Die Pathogenität von *Leptosphaeria recutita* (Fuck.) E. Mül. einerseits und *L. clavata* Guyot anderseits bleibt in gleicher Stärke beibehalten auch wenn der eine Erreger auf dem Kulturfiltrat des anderen gezüchtet wird (Tabelle 42).

Tabelle 42

Kulturfiltratversuche mit *Leptosphaeria recutita* (Fuck.) E. Mül. und *L. clavata* Guyot (Krankheitsindizes: K %; Kf. = Kulturfiltrat). F-Test: P = 0,05: 2,2; P = 0,01: 3,0; Versuch: 43,5. t-Test: P = 0,05 : 6,1: P = 0,01 : 8,1

Verfahren	K %	Reaktionstypus
Nicht infiziert	2,2	
Leptosphaeria recutita (Fuck.) E. Mül. allein	28,8	
Leptosphaeria clavata Guyot allein	33,8	
Mischinfektion	46,8	Verstärkung
Infektion mit der Mischkultur	51,7	Verstärkung
L. clavata auf Kf. von *L. recutita*	33,6	Indifferenz
L. recutita auf Kf. von *L. clavata*	28,0	Indifferenz

Im zweiten Beispiel mit *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr. erhält besonders *G. Saubinetii* durch den Einfluß des Kulturfiltrates von *H. aberrans* eine erhöhte Pathogenität (Tabelle 43). Eine zusätzliche Überlagerung der Krankheitsbilder dieser beiden Erreger dürfte aber auch hier wahrscheinlich sein.

Tabelle 43

Kulturfiltratversuche mit *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr. (Krankheitsindizes: K %; Kf. = Kulturfiltrat). F-Test: P = 0,05 : 2,2 P = 0,01: 3,0. Versuch: 48,7. t-Test: P = 0,05: 4,9; P = 0,01: 6,6

Verfahren	K %	Reaktionstypus
Nicht infiziert	1,7	
Gibberella Saubinetii (Mont.) Sacc. allein	15,2	
Hendersonia aberrans Petr. allein	15,0	
Mischinfektion	35,6	Verstärkung
Infektion mit der Mischkultur	41,8	Verstärkung
H. aberrans auf Kf. von *G. Saubinetii*	24,5	Verstärkung
G. Saubinetii auf Kf. von *H. aberrans*	30,2	Verstärkung

II. Der zeitliche Verlauf der Erkrankung durch Erregergemische

Der zeitliche Verlauf der Erkrankung junger Weizenpflanzen durch Erregergemische vermag ein Bild der Geschwindigkeit hinsichtlich der gegenseitigen Beeinflussung der Erreger zu vermitteln. Für diese Versuche wurden je zwei Pilze einzeln oder gemeinsam auf Kleie gezüchtet und in der üblichen Weise als Infektionsmaterial benützt. Die Kontrollen erfolgten 5, 10 und 15 Tage nach der Infektion.

a) Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger"

Ophiobolus graminis Sacc. vermag die Wirtspflanze nicht so schnell zu infizieren wie *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt., was besonders bei der Kontrolle nach 5 Tagen zum Ausdruck kommt. Die Erkrankung

durch die Mischinfektion, vor allem aber durch die Infektion mit der Mischkultur, zeigte schon nach 5, hauptsächlich aber nach 10 Tagen eine anfängliche Überlagerung der Krankheitsbilder. Nach 15 Tagen hat die Erkrankung durch die einzelnen Erreger die gleiche Stärke wie diejenige durch die frische Mischung und durch die Mischkultur der Erreger erreicht (Tabelle 44, Abb. 14).

Tabelle 44

Der Einfluß der Zeit auf die Erkrankung durch die frische Mischung und die Mischkultur von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt.

Verfahren	Krankheitsindizes K %		
	nach 5 Tagen	nach 10 Tagen	nach 15 Tagen
Nicht infiziert	0,5	0,8	1,8
Ophiobolus graminis Sacc. allein	32,7	60,1	79,9
Diplodina speltae E. Mül. nov. spec. in litt. allein	55,8	63,2	74,1
Mischinfektion	61,5	75,9	79,8
Infektion mit der Mischkultur	66,6	84,1	85,3
F-Test: P = 0,05:	2,9	2,9	2,9
P = 0,01:	4,4	4,4	4,4
Versuch:	462,4	689,4	656,1
t-Test: P = 0,05:	3,8	3,7	4,1
P = 0,01:	5,2	5,0	5,5

b) Typus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger“

Die Erkrankung durch *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. erfolgt langsamer und weniger heftig als diejenige durch *O. graminis* Sacc. Bei der Mischinfektion und der Infektion mit der Mischkultur erfährt die Entwicklung des Krankheitsgrades — im Vergleich zur Einzelinfektion mit *O. graminis* — keine Abänderung (Tabelle 45, Abb. 15). *O. graminis* bestimmt von Anfang an die Stärke des Befalles.

Tabelle 45

Der Einfluß der Zeit auf die Erkrankung durch die frische Mischung und die Mischkultur von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc.

Verfahren	Krankheitsindizes K %		
	nach 5 Tagen	nach 10 Tagen	nach 15 Tagen
Nicht infiziert	0,8	0,7	1,9
Ophiobolus graminis Sacc. allein	31,0	56,4	75,8
Ophiobolus herpotrichus (Fr.) Sacc. allein	20,7	45,1	49,4
Mischinfektion	31,5	59,7	77,5
Infektion mit der Mischkultur	30,2	59,3	76,2
F-Test: P = 0,05:	2,9	2,9	2,9
P = 0,01:	4,4	4,4	4,4
Versuch:	238,5	1743,1	1697,1
t-Test: P = 0,05:	2,5	1,7	2,3
P = 0,01:	3,4	2,4	3,1

c) Typus „Depression, gleichstarke Erreger“

Leptosphaeria eustomoides Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh. befallen die Wirtspflanze mit ungefähr gleicher Stärke und Geschwindigkeit. Die Infektion mit dem frischen Erregergemisch erzeugt nach 5 Tagen

eine anfängliche Verstärkung des Krankheitsgrades. Nach 10 Tagen steht der Grad des Befalles durch die frische Mischung auf noch ungefähr gleicher Höhe wie derjenige der Einzelinfektionen. Nach 15 Tagen ist eine deutliche Depression der Befallsstärke durch die ursprünglich frische Mischung der beiden Erreger zu beobachten, die dadurch zustande

Abb. 14. Der zeitliche Verlauf der Erkrankung durch *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt., sowie durch deren frische Mischung und Mischkultur (Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger"). Abszisse: Zeit; Ordinate: Krankheitsindizes K %. Kurve 1: *O. graminis* allein. Kurve 2: *D. speltae* allein. Kurve 3: Mischinfektion. Kurve 4: Infektion mit der Mischkultur. Kurve 5: Nicht infizierte Pflanzen

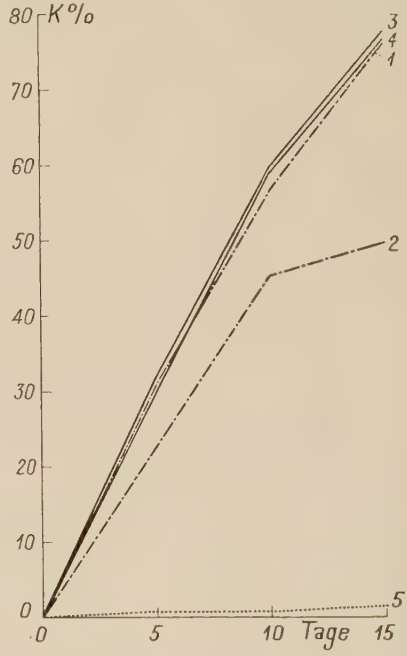


Abb. 15. Der zeitliche Verlauf der Erkrankung durch *Ophiobolus graminis* Sacc. und *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc. sowie deren frische Mischung und Mischkultur (Typus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger"). Abszisse: Zeit; Ordinate: Krankheitsindizes K %. Kurve 1: *O. graminis* allein. Kurve 2: *O. herpotrichus* allein. Kurve 3: Mischinfektion. Kurve 4: Infektion mit der Mischkultur. Kurve 5: Nicht infizierte Pflanzen

kommt, daß die neugebildeten Wurzeln und der Halmgrund nicht mehr befallen werden können. Die beiden Erreger hatten bis zu diesem Zeitpunkt genügend Gelegenheit, aufeinander einzuwirken. Werden diese beiden Erreger zusammen auf demselben Substrat wachsen gelassen, so deckt sich die Kurve des Befalles durch die Mischkultur von Anfang an mit der „Kurve" der nicht infizierten Pflanzen, da die beiden Erreger schon im präinfektionellen, saprophytischen Zustand einander beeinflußten. Es handelt sich hier lediglich um gelbliche Verfärbungen, die nicht auf Infektionen zurückzuführen sind (Tabelle 46, Abb. 16).

Tabelle 46

Der Einfluß der Zeit auf die Erkrankung durch die frische Mischung und die Mischkultur von *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh.

Verfahren	Krankheitsindizes K % nach 5 Tagen	nach 10 Tagen	nach 15 Tagen
Nicht infiziert . . .	4,9	6,9	11,5
Leptosphaeria eustomoides Sacc. allein .	27,0	43,0	51,1
Helminthosporium gramineum Rabh. allein	18,9	41,1	54,9
Mischinfektion . . .	32,5	37,1	21,3
Infektion mit der Mischkultur	4,7	8,8	12,5
F-Test: P = 0,05:	2,9	2,9	2,9
P = 0,01:	4,4	4,4	4,4
Versuch:	121,9	112,7	229,2
t-Test: P = 0,05:	3,3	3,8	4,1
P = 0,01:	4,5	4,8	5,6

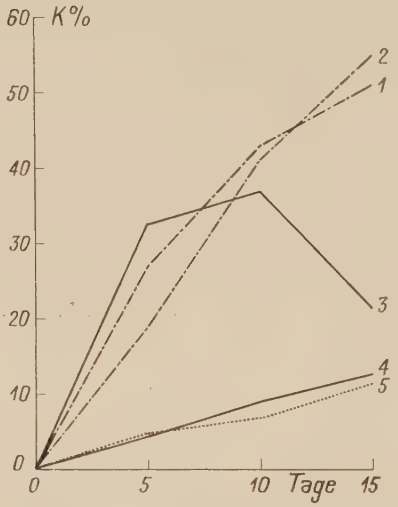


Abb. 16. Der zeitliche Verlauf der Erkrankung durch *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh. sowie durch deren frische Mischung und Mischkultur (Typus „Depression, gleichstarke Erreger"). Abszisse: Zeit; Ordinate: Krankheitsindizes K %. Kurve 1: *L. eustomoides* allein. Kurve 2: *H. gramineum* allein. Kurve 3: Mischinfektion. Kurve 4: Infektion mit der Mischkultur. Kurve 5: Nicht infizierte Pflanzen (vgl. Gäumann 1950)

d) Typus „Depression, ungleichstarke Erreger"

Der Grad der Erkrankung durch *Ophiobolus graminis* Sacc. blieb nach 5 Tagen noch auf der gleichen Höhe wie derjenige durch *Ascochyta graminicola* Sacc. Nach 10 und 15 Tagen war eine starke Zunahme des Befalles durch *O. graminis* zu beobachten, währenddem die Befallsstärke durch *A. graminicola* nur noch schwach gesteigert wurde. Die Zeit für die gegenseitige Beeinflussung der beiden Erreger war zu kurz, um eine Depression des Befallsgrades erkennen zu lassen. Die Erkrankung als Folge der Mischinfektion erreichte noch nach 15 Tagen die gleiche Stärke wie diejenige durch *O. graminis* allein. Dagegen folgt die Kurve des Befalles durch die Mischkultur derjenigen durch den schwächeren Erreger (*A. graminicola*). Die beiden Erreger hatten präinfektionell Zeit genug, aufeinander einzuwirken, wodurch die Pathogenität von *O. graminis* stark herabgedrückt wurde (Tabelle 47, Abb. 17).

e) Typus „Verstärkung"

Sowohl die Einzelinfektion mit *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. als auch diejenige mit *Hendersonia aberrans* Petr. zeigte schon nach 5 Tagen einen mittelstarken Befallsgrad, der sich nach 10 und 15 Tagen kaum mehr änderte. Die Mischinfektion und die Infektion mit der Mischkultur der beiden Erreger zeigten nach 5 Tagen einen erheblich stärkeren Befall als die Einzelinfektionen, der in der Folge auf derselben Höhe blieb (Tabelle 48, Abb. 18). Wie für den Typus „Verstärkung" zu erwarten ist, zeigt sich schon von Anfang an die Überlagerung der Krankheitsbilder, die durch die Einzelinfektionen zustande kommen.

Tabelle 47

Der Einfluß der Zeit auf die Erkrankung durch die frische Mischung und die Mischkultur von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Ascochyta graminicola* Sacc.

Verfahren	Krankheitsindizes K % nach 5 Tagen	nach 10 Tagen	nach 15 Tagen
Nicht infiziert	0,5	0,8	1,8
Ophiobolus graminis Sacc. allein	32,7	60.1	79,9
Ascochyta graminicola Sacc. allein	30,3	40.8	39,8
Mischinfektion	28,2	50,2	79,6
Infektion mit der Mischkultur	23,4	30,4	43,4
F-Test: P = 0,05:	2,9	2,9	2,9
P = 0,01:	4,4	4,4	4,4
Versuch:	912,6	194,4	546,9
t-Test: P = 0,05:	1,3	5,2	4,1
P = 0,01·	1,7	6,7	5,6

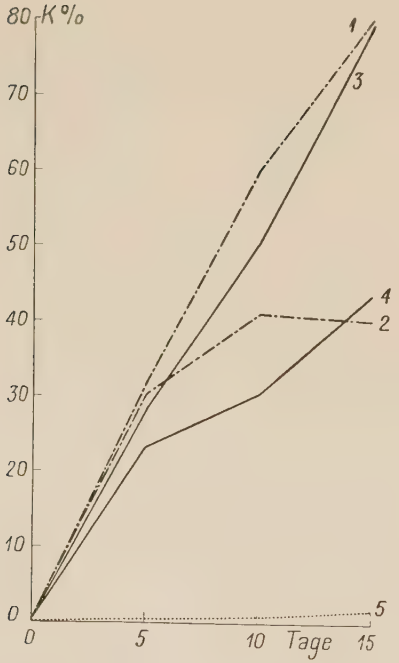


Abb. 17. Der zeitliche Verlauf der Erkrankung durch *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Ascochyta graminicola* Sacc. sowie durch deren frische Mischung und Mischkultur (Typus „Depression, ungleichstarke Erreger"). Abszisse: Zeit; Ordinate: Krankheitsindizes K %. Kurve 1: *O. graminis* allein. Kurve 2: *A. graminicola* allein. Kurve 3: Mischinfektion. Kurve 4: Infektion mit der Mischkultur. Kurve 5: Nicht infizierte Pflanzen

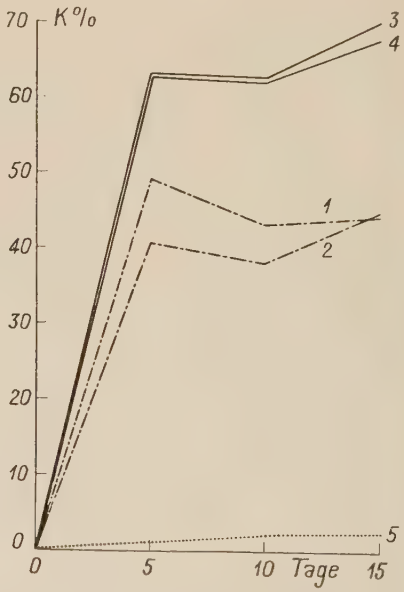


Abb. 18. Der zeitliche Verlauf der Erkrankung durch *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr. sowie durch deren frische Mischung und Mischkultur (Typus „Verstärkung"). Abszisse: Zeit; Ordinate: Krankheitsindizes K %. Kurve 1: *G. Saubinetii* allein. Kurve 2: *H. aberrans* allein. Kurve 3: Mischinfektion. Kurve 4: Infektion mit der Mischkultur. Kurve 5: Nicht infizierte Pflanzen

Tabelle 48

Der Einfluß der Zeit auf die Erkrankung durch die frische Mischung und die Mischkultur von *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr.

Verfahren	Krankheitsindizes K % nach 5 Tagen	nach 10 Tagen	nach 15 Tagen
Nicht infiziert	1,2	2,2	2,5
Gibberella Saubinetii (Mont.) Sacc. allein	49.2	43,0	44,1
Hendersonia aberrans Petr. allein	40,5	38,0	44,5
Mischinfektion	63,1	62.3	69.8
Infektion mit der Mischkultur	63,0	61,8	67,5
F-Test: P = 0,05:	2,9	2,9	2,9
P = 0,01:	4,4	4,4	4,4
Versuch:	1443,6	190,7	441,0
t-Test: P = 0,05:	2,0	5,2	3,9
P = 0,01:	2,7	7,1	5,3

III. Der Einfluß der Temperatur auf den Grad des Befalles durch Erregergemische

Der Einfluß der Temperatur auf den Befallsgrad konnte nur an je einem Beispiel der Typen „Depression, gleichstarke Erreger“ und „Verstärkung“ geprüft werden. Aus technischen Gründen wurden die Versuche nur bei vier Temperaturen (18, 20, 24 und 26 °C) durchgeführt. Gleichzeitig kamen das antagonistische Verhalten der entsprechenden Erregerpaare und das flächenmäßige Myzelwachstum der Erreger in vitro (auf Malzagar) bei diesen Temperaturen zur Untersuchung.

Für den Typus „Depression, gleichstarke Erreger“ wurden *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh. verwendet. Nach einer Versuchsdauer von 9 Tagen entsprachen die Infektionserfolge mit der frischen Mischung der beiden Erreger bei einer Temperatur von 18 °C dem Typus „Verstärkung“, bei 20 °C dem Typus „Indifferenz“ und bei 24 und 26 °C dem Typus „Depression“. Die Infektion mit der Mischkultur verursachte bei allen Temperaturen eine deutliche Depression des Befallsgrades (Tabelle 49,

Tabelle 49

Der Einfluß der Temperatur auf die Erkrankung durch die frische Mischung und die Mischkultur von *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh. nach 9 Tagen

Verfahren	Krankheitsindizes K % bei verschiedenen Temperaturen 18° C	20° C	24° C	26° C
Nicht infiziert	1,2	1,0	1,2	1,6
Leptosphaeria eustomoides Sacc. allein	38,6	43,4	45,8	42,9
Helminthosporium gramineum Rabh. allein	38,2	37,2	44,9	42,3
Mischinfektion	49,8	37,0	20,5	23,4
Infektion mit der Mischkultur	31,3	23,8	19,6	20,9
F-Test: P = 0,05:	3,1	2,9	2,9	2,9
P = 0,01:	4,9	4,4	4,4	4,4
Versuch:	969,7	202.2	407,0	185,6
t-Test: P = 0,05:	3,8	3,5	2,7	3,6
P = 0,01:	5,3	5,0	3,8	5,0

Abb. 19). Die Resultate sind im Prinzip gleich wie diejenigen des entsprechenden Zeitversuches (Tabelle 46), was wohl damit zu erklären ist, daß die Temperatur vornehmlich die Reaktionsgeschwindigkeit steuert. — Das Verhalten der beiden Erreger in vitro (auf Malzagar) war bei den vorhandenen Temperaturen gleich. Die Myzelien durchwuchsen sich gegenseitig.

Beim Reaktionstypus „Verstärkung" (*Gibberella Saubinetii* [*Mont.*] Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr.) war bei allen Temperaturen sowohl für die Mischinfektion als auch für die Infektion mit der Mischkultur eine Überlagerung der beiden Krankheitsbilder der Einzelinfektionen festzustellen (Tabelle 50, Abb. 20). Auch hier zeigte sich prinzipiell das gleiche Verhalten wie beim entsprechenden Zeitversuch (Tabelle 48). — Die Myzelien wuchsen auf Malzagar bei allen Temperaturen aneinander und bildeten eine Demarkationslinie.

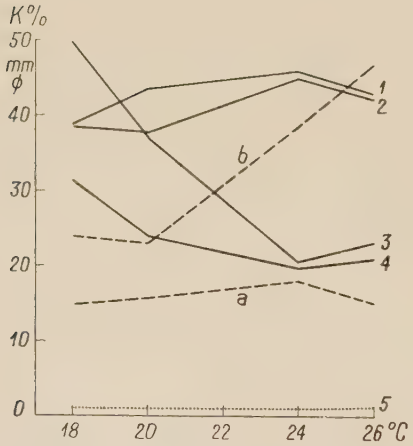


Abb. 19. Der Einfluß der Temperatur auf die Erkrankung durch *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh., deren frische Mischung, deren Mischkultur, sowie auf das Wachstum der beiden Erreger auf Malzagar (Typus „Depression, gleichstarke Erreger"). Abszisse: Temperatur; Ordinate: Krankheitsindizes K % und mm-Durchmesser. Kurve 1: Infektion mit *L. eustomoides* allein. Kurve 2: Infektion mit *H. gramineum* allein. Kurve 3: Mischinfektion. Kurve 4: Infektion mit der Mischkultur. Kurve 5: Nicht infizierte Pflanzen. Kurve a: Flächenwachstum von *L. eustomoides*, Kurve b: von *H. gramineum* auf Malzagar

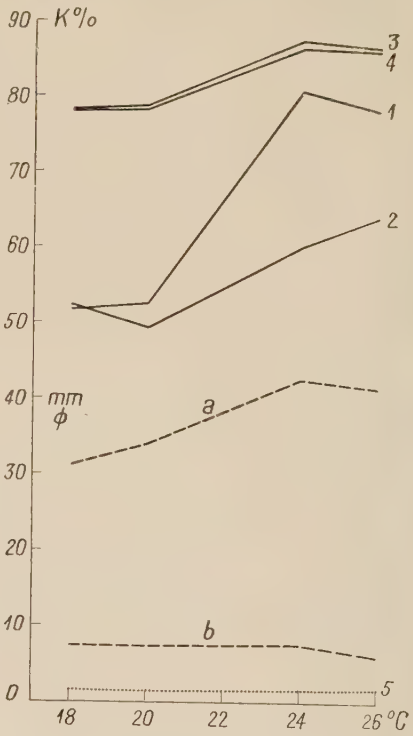


Abb. 20. Der Einfluß der Temperatur auf die Erkrankung durch *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr., deren frische Mischung, deren Mischkultur, sowie auf das Wachstum der beiden Erreger auf Malzagar (Typus „Verstärkung"). Abzisse: Temperatur; Ordinate: Krankheitsindizes K % und mm-Durchmesser. Kurve 1: Infektion mit *G. Saubinetii* allein. Kurve 2: Infektion mit *H. aberrans* allein. Kurve 3: Mischinfektion. Kurve 4: Infektion mit der Mischkultur. Kurve 5: Nicht infizierte Pflanzen. Kurve a: Flächenwachstum von *G. Saubinetii*, Kurve b: von *H. aberrans* auf Malzagar

Tabelle 50

Der Einfluß der Temperatur auf die Erkrankung durch die frische Mischung und die Mischkultur von *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr. nach 13 Tagen

Verfahren	Krankheitsindizes K% bei verschiedenen Temperaturen			
	18°C	20°C	24°C	26°C
Nicht infiziert	1,6	1,2	1,6	1,6
Gibberella Saubinetii (Mont.) Sacc. allein	51,6	52,5	80,1	78,0
Hendersonia aberrans Petr. allein	52,5	49,4	60,1	63,7
Mischinfektion	78,3	78,7	87,2	86,4
Infektion mit der Mischkultur	78,1	78,3	86,3	85,7
F-Test: P = 0,05:	2,9	2,9	2,9	2,9
P = 0,01:	4,4	4,4	4,4	4,4
Versuch:	643,7	3576,6	1378,0	1015,4
t-Test: P = 0,05:	3,7	1,6	2,9	3,3
P = 0,01:	5,0	2,1	3,9	4,5

IV. Das Verhalten von Erregergemischen auf verschiedenen Wirtspflanzen

Als Wirtspflanzen kamen Sommerweizen (Huron), Sommergerste (Isaria), Sommerroggen (Berna) und Hafer (Flämingsgold) zur Verwendung.

a) Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger"

Ophiobolus graminis Sacc. infizierte Weizen stark, Gerste, Roggen und Hafer (in abnehmendem Maße) nur mittelstark. *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt. vermochte dagegen alle vier Wirtspflanzen stark zu befallen. Die Erkrankung als Folge der Mischinfektion und der Infektion mit der Mischkultur dieser beiden Erreger erreichte auf allen vier Wirtsarten denselben Grad, wie er durch beide oder einen der beiden Erreger in Einzelinfektion erzeugt wurde. Der Befall auf Weizen entspricht dem Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger", auf den übrigen Getreidearten — wegen der ungleichstarken Einzelinfektionen — dem Typus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger". Auf Gerste, Roggen und Hafer dominierte *D. speltae* (Tabelle 51).

Tabelle 51

Infektionserfolge nach 12 Tagen auf verschiedenen Wirtspflanzen mit der frischen Mischung und einer etwa 3 Wochen alten Mischkultur von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Diplodina speltae* E. Mül. nov. spec. in litt.

Verfahren	Krankheitsindizes K%			
	Weizen	Gerste	Roggen	Hafer
Nicht infiziert	1,7	1,3	0.5	1,5
Ophiobolus graminis Sacc. allein	73,6	53,6	48.5	40,9
Diplodina speltae E. Mül. nov. spec. in litt. allein	73,5	96,9	78,3	63,7
Mischinfektion	73,9	95,8	78,6	64,3
Infektion mit der Mischkultur	71,4	96,3	80,6	72,1
F-Test: P = 0,05:	2,9	2,9	2,9	2,9
P = 0,01:	4,4	4,4	4,4	4,4
Versuch:	284,9	2022,3	739,0	110,8
t-Test: P = 0,05:	5,5	2,7	3,7	7,9
P = 0,01:	7,6	3,7	5,1	11,0

b) Typus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger"

Auch beim Beispiel *Ophiobolus graminis* Sacc. und *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc. verhalten sich die Infektionserfolge der frischen Mischung und der Mischkultur dieser beiden Erreger gegenüber den Einzelinfektionen indifferent. Auf Weizen und Gerste ist der Typus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger" erhalten geblieben. Auf Weizen bestimmt *O. graminis* die Befallstärke, auf Gerste dagegen *O. herpotrichus*. Auf Roggen und Hafer resultierte im wesentlichen der Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger", da beide Parasiten diese Wirtspflanzen in ungefähr gleicher Stärke zu befallen vermögen (Tabelle 52). Auch hier wird durch die verschiedenartige Anfälligkeit der verschiedenen Wirte der Typus „Indifferenz, ungleichstarke Erreger" in den Typus „Indifferenz, gleichstarke Erreger" abgeändert.

Tabelle 52

Infektionserfolge nach 12 Tagen auf verschiedenen Wirtspflanzen mit der frischen Mischung und einer etwa 3 Wochen alten Mischkultur von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *O. herpotrichus* (Fr.) Sacc.

Verfahren	Krankheitsindizes K %			
	Weizen	Gerste	Roggen	Hafer
Nicht infiziert	1,7	1,3	0,5	1,5
Ophiobolus graminis Sacc. allein	73,6	53,6	48,5	40,9
Ophiobolus herpotrichus (Fr.) Sacc. allein	46,9	84,8	50,0	48,9
Mischinfektion	75,9	95,0	49,5	54,0
Infektion mit der Mischkultur	73,1	92,0	50,1	52,8
F-Test: $P = 0{,}05$:	2,9	2,9	2,9	2,9
$P = 0{,}01$:	4,4	4,4	4,4	4,4
Versuch:	233,9	678,6	245,7	207,1
t-Test: $P = 0{,}05$:	6,0	4,4	4,0	4,5
$P = 0{,}01$:	8,8	6,0	5,6	6,1

c) Typus „Depression, gleichstarke Erreger"

Als Beispiel wurde wiederum die Kombination *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh. gewählt. Die Mischkultur der beiden an sich mittelstarken Erreger vermochte auf keiner der vier Getreidearten einen Befall auszulösen (Tabelle 53). Der Typus „Depression" ist bei der Erkrankung durch die frische Mischung der beiden Erreger auf der Gerste bereits gut ausgeprägt, auf Weizen und Roggen dagegen erst angedeutet und auf Hafer noch nicht zu beobachten.

d) Typus „Depression, ungleichstarke Erreger"

Ophiobolus graminis Sacc. vermochte auf Weizen eine starke, auf Gerste und Hafer eine mittelstarke und auf Roggen nur eine schwache Infektion auszulösen. *Ascochyta graminicola* Sacc. infizierte die Gerste mittelstark, Weizen, Roggen und Hafer dagegen nur schwach. Aus der Infektion mit der Mischkultur der beiden Pilze resultierte auf allen vier Getreidearten nur ein schwacher Befall, wogegen die frische Mischung der beiden Pilze auf Weizen, Gerste und Hafer noch eine mittelstarke, auf Roggen nur eine schwache Infektion zustande brachte. Für die Mischinfektion und die Infektion mit der

Tabelle 53

Infektionserfolge nach 13 Tagen auf verschiedenen Wirtspflanzen mit der frischen Mischung und einer etwa 3 Wochen alten Mischkultur von *Leptosphaeria eustomoides* Sacc. und *Helminthosporium gramineum* Rabh.

Verfahren	Krankheitsindizes K%			
	Weizen	Gerste	Roggen	Hafer
Nicht infiziert	1,0	2,3	0,2	1,6
Leptosphaeria eustomoides Sacc. allein	50,3	60,9	45,8	28,8
Helminthosporium gramineum Rabh. allein	24,4	13,0	1,9	4,2
Mischinfektion	44,8	48,3	40,0	33,8
Infektion mit der Mischkultur	5,2	5,1	7,2	1,1
F-Test: P = 0,05:	2,9	2,9	2,9	2,9
P = 0,01:	4,4	4,4	4,4	4,4
Versuch:	615,6	465,5	221,9	341,8
t-Test: P = 0,05:	1,9	2,7	3,1	1,8
P = 0,01:	2,6	3,5	4,0	2,4

Mischkultur der beiden Pilze auf Weizen und Gerste ist der Typus „Depression“ deutlich vertreten, auf Hafer dagegen nur angedeutet und auf Roggen verwischt (Tabelle 54). Je nach der Pathogenität der einzelnen Pilze auf den verschiedenen Wirten können unter Umständen auch verschiedene Reaktionstypen mit den gleichen Pilzkombinationen auftreten. Auf Weizen: „Depression, ungleichstarke Erreger“, auf Gerste: „Depression, gleichstarke Erreger“, auf Roggen: „Indifferenz, gleichstarke Erreger“, auf Hafer (nur für die Infektion mit der frischen Mischung): „Indifferenz, ungleichstarke Erreger“.

Tabelle 54

Infektionserfolge nach 14 Tagen auf verschiedenen Wirtspflanzen mit der frischen Mischung und einer etwa 3 Wochen alten Mischkultur von *Ophiobolus graminis* Sacc. und *Ascochyta graminicola* Sacc.

Verfahren	Krankheitsindizes K%			
	Weizen	Gerste	Roggen	Hafer
Nicht infiziert	2,2	1,0	0,3	1,2
Ophiobolus graminis Sacc. allein	68,6	58,1	26,3	52,6
Ascochyta graminicola Sacc. allein	27,9	55,3	24,8	21,9
Mischinfektion	44,8	40,3	25,4	47,1
Infektion mit der Mischkultur	27,0	29,1	23,7	19,2
F-Test: P = 0,05:	2,9	2,9	2,9	2,9
P = 0,01:	4,4	4,4	4,4	4,4
Versuch:	837,7	123,5	57,6	64,0
t-Test: P = 0,05:	1,8	4,5	3,2	5,5
P = 0,01:	2,4	5,9	4,2	7,5

e) Typus „Verstärkung“

Die verschiedenen Wirtspflanzen werden durch die beiden Erreger *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr. in Einzelinfektion nur schwach oder mittelstark befallen. Der Befall durch die Mischinfektion und die Infektion mit der Mischkultur der beiden Pilze zeigt für alle vier Wirtspflanzen den Typus „Verstärkung“. Die frische Mischung und die Misch-

kultur der beiden Erreger vermochten Weizen, Gerste und Roggen sehr stark, den Hafer nur mittelstark zu befallen (Tabelle 55).

Tabelle 55

Infektionserfolge nach 14 Tagen auf verschiedenen Wirtspflanzen mit der frischen Mischung und einer etwa 3 Wochen alten Mischkultur von *Gibberella Saubinetii* (Mont.) Sacc. und *Hendersonia aberrans* Petr.

Verfahren	Krankheitsindizes K%			
	Weizen	Gerste	Roggen	Hafer
Nicht infiziert	2,2	1,0	0,3	1,2
Gibberella Saubinetii (Mont.) Sacc. allein	47,9	21,8	39,6	15,7
Hendersonia aberrans Petr. allein	29,9	30,3	29,7	23,2
Mischinfektion	79,5	79,6	81,7	54,9
Infektion mit der Mischkultur	72,4	85,5	80,0	53,8
F-Test: P = 0,05:	2,9	2,9	2,9	2,9
P = 0,01:	4,4	4,4	4,4	4,4
Versuch:	582,3	519,2	278,9	162,8
t-Test: P = 0,05:	2,7	3,6	4,3	4,1
P = 0,01:	3,7	4,6	5,9	5,8

Die Untersuchungen über den Mechanismus, insbesondere die Kulturfiltratversuche zeigten, daß eine allfällige, gegenseitige Beeinflussung der Erreger stofflicher Natur ist und unabhängig vom Wirt erfolgen kann. Eine Verschiebung der Reaktionslage kann aber auch eintreten, wenn das Nährsubstrat als solches schon einen Einfluß auf die Pathogenität eines einzelnen Erregers auszuüben vermag (z. B. Tabelle 35). Dasselbe kann dort der Fall sein, wo ein Erreger verschiedene Wirtspflanzen verschieden stark infiziert (Tabelle 51—55). Die Frage, ob die festgestellten, gegenseitigen Beeinflussungen der Erreger auf der Bildung von Abbauprodukten des jeweiligen Gegenpilzes oder auf einem Nährstoff-, Wuchsstoff- oder Vitaminentzug aus dem Nährsubstrat durch den einen Partner beruhen, kann an Hand der durchgeführten Versuche nicht entschieden werden.

Die Zeit, und, soweit dies festgestellt werden konnte, auch die Temperatur spielen besonders beim Typus „Depression“ eine große Rolle, indem zuerst der einfache Typus „Verstärkung“, dann der etwas kompliziertere Typus „Indifferenz“ und erst im Verlauf einer gewissen Zeitspanne der noch kompliziertere Typus „Depression“ zutage tritt (Tabelle 46 und 49, Abb. 16 und 19). Bis das Reaktionsgleichgewicht zwischen zwei Erregern hergestellt ist, sind für das Beispiel „Depression“ vorerst noch als labil zu bezeichnende Zustände zu erwarten. Für den Typus „Indifferenz“ kann zu Beginn der Erkrankung noch eine einfache Überlagerung der Krankheitsbilder festgestellt werden (Tabelle 44, Abb. 14), währenddem der Typus „Verstärkung“ von Anfang an fixiert zu sein scheint (Tabelle 48 und 50, Abb. 18 und 20).

Zusammenfassung

1. Bei den echten Mischinfektionen (ungefähr gleichzeitige Infektion derselben Organe durch verschiedenartige Erreger) werden drei Reaktionstypen unterschieden:

a) Indifferenz. (Der Befallsgrad als Folge einer Mischinfektion entspricht demjenigen der Einzelerkrankung durch den stärksten Erreger des Gemisches.)
b) Depression. (Der Befallsgrad als Folge einer Mischinfektion liegt deutlich niedriger als derjenige der Einzelerkrankung durch den stärksten Erreger des Gemisches.)
c) Verstärkung. (Der Befallsgrad als Folge einer Mischinfektion liegt deutlich höher als derjenige der Einzelerkrankung durch den stärksten Erreger des Gemisches.)

Eine weitere Unterteilung der Typen „Indifferenz" und „Depression" in zwei Untergruppen „gleichstarke" und „ungleichstarke" Erreger erwies sich als vorteilhaft.

2. Kombinationen von zwei, drei, vier oder mehr Erregern können sehr komplizierte Verhältnisse hinsichtlich des Infektionserfolges der Mischung verursachen. So ergeben z. B. *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. und *Leptosphaeria nigrans* (Desm.) Ces. et de Not. eine Depression, diese beiden Erreger zusammen mit *L. recutita* (Fuck.) E. Mül. eine Verstärkung und diese drei zusammen mit *L. clavata* Guyot eine Indifferenz des Befallsgrades gegenüber der Einzelerkrankung durch den stärksten Erreger (Tabelle 16).
3. Das antagonistische Verhalten zweier oder mehrerer Erreger in vitro (z. B. auf Malzagar) geht mit dem Reaktionstypus der entsprechenden Mischinfektion nicht parallel.
4. Das präinfektionelle Zusammenleben verschiedener Erreger in ihrer saprophytischen Phase spielt eine wichtige Rolle. Es kürzt in den meisten Fällen die für eine echte Mischinfektion notwendige Reaktionszeit im Wirt ab. Eine Verlagerung des Reaktionstypus kann dadurch in gewissen Fällen vorkommen; sie ist aber wahrscheinlich nur zeitgebunden.
5. Bei den untersuchten Beispielen ist es gleichgültig, ob die Erreger gleichzeitig oder zeitlich gestaffelt die Wirtspflanze infizieren. Der Reaktionstypus wird auch dann beibehalten, wenn der eine Erreger einige Tage vor dem zweiten die Wirtspflanze befällt (Primär- und Sekundärinfektion).
6. Kulturfiltratversuche zeigten, daß eine gegenseitige Beeinflussung der Erreger hinsichtlich ihrer Pathogenität stofflicher Natur ist.
7. Die Zeit, die für die gegenseitige stoffliche Beeinflussung zur Verfügung steht, sowie die Temperatur spielen besonders für den Typus „Depression" eine wichtige Rolle. Bei diesem Typus können innerhalb einiger Tage sämtliche Reaktionstypen in der Reihenfolge „Verstärkung", „Indifferenz", „Depression" bis zum stabilen Verhalten (also „Depression") durchlaufen werden. Beim Typus „Indifferenz" tritt zuerst ebenfalls eine einfache Überlagerung („Verstärkung") und erst dann „Indifferenz" als stabiler Zustand auf. Beim Typus „Verstärkung" bleibt dagegen die Überlagerung der Krankheitsbilder von Anfang an als stabiler Zustand bestehen.

8. Die Wirtspflanze kann besonders dann eine Abänderung des Reaktionstypus bewirken, wenn die Partner einer Mischung die verschiedenen Wirte in Einzelinfektion verschieden stark befallen.
9. Die Befallsstärke (Krankheitsindizes K%) wurde nach einer modifizierten Bonitierungsmethode ermittelt und die Resultate nach der Streuungszerlegung ausgewertet.
10. Unter den isolierten Fußkrankheitserregern fanden sich drei neue Arten:
    Diplodina speltae E. Mül. nov. spec. in litt.
    Coniothyrium cerealis E. Mül. nov. spec. in litt.
    Phoma raetica E. Mül. nov. spec. in litt.
    Die ersten beiden Erreger erwiesen sich auf jungen Weizenpflanzen als stark, der dritte als schwach pathogen.

Summary

Title: Studies on the Pathogenicity of Parasites in Combination Causing Foot Rot of Cereals.

1. Three types of reactions are distinguished with real mixed infections (simultaneous infection of the same organs of the host by different parasites):
   a) Indifference (the rate of disease caused by different parasites in combination corresponds to the one caused by the heaviest parasite).
   b) Decrease (the rate of disease caused by different parasites in combination is considerably lower than the one caused by the heaviest parasite).
   c) Increase (the rate of disease caused by different parasites in combination is considerably higher than the one caused by the heaviest parasite).
   Subdivision of the types Indifference and Decrease into two groups, parasites of "equal„ and "unequal„ pathogenicity, proved an advantage.
2. Combinations of two, three, four, or more parasites may cause very complicated results of infection. E. g. *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. and *Leptosphaeria nigrans* (Desm.) Ces. et de Not. cause the Decrease type, the two parasites combined with *L. recutita* (Fuck.) E. Mül. cause the Increase type and these three parasites combined with *L. clavata* Guyot the Indifference type (see table 16).
3. There is no parallel between the antagonistic action of two or more parasites in vitro (on agar with malt e. g.) and the type of reaction of the infection of the corresponding combination of parasites.
4. Living together of different parasites on the same substratum in their saprophytic phase plays an important part. In cases of Indifference and Decrease it shortens the time of reaction in the host necessary to reach the stable state for real mixed infection. This may cause a change of the type of reaction in certain cases, yet it is probably dependent on the factor time.
5. With the examined examples it is of no importance whether the parasites infect the host simultaneously or one after the other (primary

and secondary infection). The type of reaction remains the same if one parasite infects the host several days before the other.

6. Investigations with culture filtrates show that the influence of one parasite on the other as to their pathogenicity is of a material nature.
7. The time available for the material influence of one parasite upon the other, as well as the temperature, play an important part, especially for the Decrease type. With this type all types of reaction can be passed, in the sequence of Increase, Indifference, Decrease within a few days. The type Decrease then remains. With the type Indifference we also find firstly an Increase and Indifference following, which remains. With the type Increase, on the other hand, the increase of the rate of disease remains from the beginning.
8. The host plant may cause a change of the type of reaction especially if the partners in a combination infect the different hosts in various severity.
9. The rate of disease of the investigations of this study have been based upon a modified disease-index method (disease indizes: K%); the results being evaluated by the analysis of variance.
10. Three new species were found among the isolated fungi:
    Diplodina speltae E. Mül. nov. spec. in litt.
    Coniothyrium cerealis E. Mül. nov. spec. in litt.
    Phoma raetica E. Mül. nov. spec. in litt.
    The first two parasites proved strongly, and the third weakly pathogenic on young wheat plants.

Zitierte Literatur

Allescher, A., 1903. *Fungi imperfecti*, gefärbtsporige Sphaeroideen usw. in Rabh.Kr. fl. VII. Abt.

Anliker, J., 1935. Beiträge zur Kenntnis der Fusariose des Roggens. Diss., E. T. H. Zürich. 115 S.

Anonymus, 1918. Rothamsted Exp. Stat., Harpenden. Reports 1915—1917 und weitere Jahre.

Anonymus, 1943. The measurement of plant diseases in the field. Trans. Brit. Myc. Soc. **26**, 172—173.

Anonymus, 1947. The measurement of potato blight. Trans. Brit. Myc. Soc. **31**, 140—141.

Anonymus, 1948. Disease measurement in plant pathology. Trans. Brit. Myc. Soc. **31**, 343—345.

Brittlebank, C. C., 1919. Green material crops and take-all. Jour. Dept. Agr. Victoria **17**, 171—174.

Broadfoot, W. C., 1933a. Studies on foot and root rot of wheat. I. Effect of age of the wheat plant upon the development of foot and root rot. Canad. J. Res. **8**, 483—491.

Broadfoot, W. C., 1933b. On the pathogenicity of *Wojnowicia graminis*. Phytopath. **23**, 1001—1002.

Broadfoot, W. C., 1933c. Studies on foot and root rot of wheat. II. Cultural relationships on solid media of certain microorganisms in association with *Ophiobolus graminis* Sacc. Can. J. Res. **8**, 545—552.

Butler, F. C., 1948. Take-all of wheat. Agric. Gaz. N. S W. **49**, 248—250.

Carne, W. M., 1927. Root rot and foot rot of wheat (*Wojnowicia graminis* and *Helminthosporium sativum*). J. Dept. Agr. West. Austr. II. ser., **4**, 483—488.

Christensen, J. J. und Graham, T. W., 1934. Physiologic specialisation in *Helminthosporium gramineum* Rabh. Techn. Bull. Agr. Expt. Stat. Univ. Minnesota, Nr. 95, 1—40.

Defago, G., 1942. Observations sur les pietins des céréales en Suisse romande. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **52**, 5—46.

Detroux, L., 1946. Recherches sur le piétin verse (*Cercosporella herpotrichoides* Fron.). Parasitica **2**, 1—13.

Drechsler, C., 1923. Some graminiculous species of *Helminthosporium*. J. Agr. Res. **24**, 641—740.

Drechsler, C., 1934. Phytopathological and taxonomic aspects of *Ophiobolus*, *Pyrenophora*, *Helminthosporium* and a new genus, *Cochliobulus*. Phytopath. **24**, 953—983.

Ettlinger, L., 1946. Antibiose und antibiotische Stoffe der Pflanzen. Schweiz. Ztschr. f. Pathol. und Bakteriol. **9**, 352—378.

Fisher, R. A., 1941. Statistical methods for research workers. Edinb. a. London, Oliver a. Boyd, 8. Aufl.

Foëx, E., 1935. Quelques observations sur les maladies du pieds des céréales. C. R. Acad. Agr. France **21**, 501—505.

Foëx, E. und Rosella, E., 1932. Recherches sur le piétin du ble au course de la campagne 1930/31. C. R. Acad. Agr. France **18**, 376—383.

Foëx, E. und Rosella, E., 1933. Quelques observations sur le piétin des céréales. Rev. path. vég. et ent. agric. **20**, 172—187.

Foëx, E. und Rosella, E., 1934. Etude sur les piétins des céréales. C. R. Acad. Agr. France **20**, 480—483.

Fraser, W. P., Simmonds, P. M. und Russell, R. C., 1926. The take-all disease in Canada. Phytopath. **16**, 80—81, (Abstr.).

Garrett, S. D., 1934. Factors affecting the severity of take-all. J. Dept. Agr. S. Austr. **37**, 664—674.

Garrett, S. D., 1938. Soil conditions and the root infecting fungi. Biol. Rev. **13**, 159 bis 185.

Garrett, S. D., 1941. Soil conditions and the take-all of *Ophiobolus graminis* on the roots of different grasses. Ann. Appl. Biol. **28**, 325—332.

Garrett, S. D., 1942. The take-all disease of cereals. Techn. Communic. Nr. 41, 40 S.

Garrett, S. D., 1944. Root disease fungi. Waltham, Mass. USA., Chron. Bot. 177 S.

Gäumann, E., 1946. Pflanzliche Infektionslehre. Basel, Birkhäuser. 1. Aufl., 611 S.

Gäumann, E., 1950. Pflanzliche Infektionslehre. Basel, Birkhäuser. 2. Aufl.

Gilbert, H. J., 1895. Agricultural investigations at Rothamsted, England. U. S. Dept. of Agr., Office of Expt. Stat. Bull. Nr. 22, 316 S.

Greaney, F. J., 1938. The effect of phosphate deficiencies on infection of wheat by *Fusarium culmorum*. Canad. J. Res. **18**, 27—37.

Guyot, L., 1925. De l'existence de formes pycnidiennes chez *Ophiobolus graminis* Sacc. et *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. Rev. path. vég. et ent. agric. **12**, 74—81.

Guyot, M., 1924. Quelques observations sur diverses maladies des céréales. Rev. path. vég. et ent. agric. **11**, 268—287.

Haan, J. T. de, 1937. Untersuchungen über das Auftreten der Keimlingsfusariose bei Gerste, Hafer, Mais und Reis. Phytopath. Ztschr. **10**, 235—305.

Holm, L., 1948. Taxonomical notes on Ascomycetes. I. The Swedish species of the genus *Ophiobolus* Riess, sensu Sacc. Svensk. Bot. Tidskr. **42**, 337—347.

Horsfall, J. G. and Heuberger, J. W., 1942. Measuring magnitude of a defoliation disease of tomatoes. Phytopath. **32**, 226—232.

Kerleroux, L., 1930. Quelques observations sur le piétin du blé. Rev. path. vég. et ent. agric. **17**, 35—40.

Kirby, R. S., 1922. The take-all disease of cereals and grasses. Phytopath. **12**, 66—88.

Kirby, R. S., 1925. Take-all disease of cereals and grasses caused by the fungus *Ophiobolus cariceti*. Man. Cornell. Agr. Exp. Stat. Nr. 88.

Kirchner, O., 1891. Braunfleckigkeit der Gerstenblätter. Ztschr. f. Pflanzenkrankh. **1**, 24—26.

Laar, J. H. J., van de, 1931. Onderzoekingen over *Ophiobolus graminis* Sacc. en *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. en over de door deze fungi veroorzaakte ziekten van *Triticum vulgare* Vill. en andere *Gramineae*. Diss. Wageningen.

Lal, A., 1939. Interaction of soil micro-organisms with *Ophiobolus graminis* Sacc., the fungus causing the take-all disease of wheat. Ann. Appl. Biol. **26**, 247—261.

Linder, A., 1945. Statistische Methoden für Naturwissenschafter, Mediziner und Ingenieure. Basel, Birkhäuser. 150 S.

Lochhead, A. G., Timonin, M. J. und West, P. M., 1940. The microflora of the rhizosphere in relation to resistance of plants to soil-borne pathogenes. Sci. Agr. **20**, 414—418.

McKinney, H. H., 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. J. Agr. Res. **26**, 195—217.

McKinney, H. H. und Johnson, A. G., 1921. *Wojnowicia graminis* (McAlp.) Sacc. et D. Sacc. on wheat in the United States. Phytopath. **11**, 505—506.

Moore, W. G., 1943. The measurement of plant diseases in the field. Trans. Brit. Myc. Soc. **26**, 28—35.

Müller, E., 1950. Die schweizerischen Arten der Gattung *Leptosphaeria* und ihrer Verwandten. Sydowia (Ann. myc.) **4**, 182—316.

Oort, A. J. P. 1936. De oogvlekkenziekte van de granen veroorzaakt door *Cercosporella herpotrichoides* Fron. Tijdschr. Plantenziekten, **42**, 211—243.

Padwick, G. W. und Henry A. W. 1933. The relation of species of Agropyron and certain other grasses to the foot rot problem of wheat in Alberta. Canad. J. Res., **8**, 193—343.

Petrak, F. 1927. Mykologische Notizen IX. Ann. myc., **25**, 349—363.

Puterill, V. A. 1924. Plant disease in Western Cape Province. XII. Vrootpoctje or take-all of wheat. J. Dept. Agr. S.-Africa, **8**, 602—612.

Ravn, F. K. 1901. Über einige *Helminthosporium*arten und die von denselben hervorgerufenen Krankheiten bei Gerste und Hafer. Ztschr. f. Pflanzenkrankh., **11**, 1—26.

Rosen, H. R. und Elliott, J. A. 1923. Pathogenicity of *Ophiobolus cariceti* in its relationship to weakened plants. J. Agr. Res., **25**, 351—358.

Saccardo, P. A. 1892. Sylloge fungorum, **10**.

Samuel, G. 1923. Take-all investigations. J. Dept. Agr. S.-Australia, **27**, 438—442.

Samuel, G. 1924. Take-all investigations II. J. Dept. Agr. S.-Australia, **27**, 1134—1147.

Samuel, G. 1925. Annual report of the lecturer on plant pathology. Regr. from Rept. Min. of Agric. S.-Australia for the year ending 30th. June, 1925, 2 p.

Sanford, G. B. 1926. Report of the Dominion Field Laboratory of plantpathology Saskatoon, in co-operation with the University of Saskatchewan. Rept. Dominion Botanist for the year 1925, Div. of. Bot., Canada, Dept. of Agric., 95—101.

Sanford, G. B. und Cormack, M. W. 1940. Variability in association effects of other soil fungi on the virulence of *Helminthosporium sativum* on wheat seedlings. Canad. J. Res., Sect. C., **18**, 562—565.

Snedecor, G. W. 1946. Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology. Ames, Iowa, The Iowa State College Press, 4. Aufl., 485 S.

Sprague, R. 1935. *Wojnowicia graminis* as a very weak, secondary parasite on winter cereal crops. Phytopath. **25**, 405—415.

Sprague, R. und Fellows, H. 1934. Cercosporella foot rot of winter cereals. U. S. Dept. Agr. Techn. Bul. Nr. 428, 1—24.

Tanja, A. E. 1933. Untersuchungen über *Gibberella Saubinetii* (Dur. et. Mont) Sacc. und die Fusariose des Weizens. Phytopath. Ztschr., **6**, 375—428.

Timonin, M. J. 1940a. The interaction of higher plants and soil micro-organisms. I. Microbial population of rhizosphere of seedlings of certain cultivated plants. Canad. J. Res. Sect. C., **18**, 307—317.

Timonin, M. J. 1940 b. The interaction of higher plants and soil micro-organisms. II. Study of the microbial population of the rhizosphere in relation to resistance of plants to soil borne diseases. Canad. J. Res., Sect. C., **18**, 444—457.

Timonin, M. J. 1941. The interaction of higher plants and soil micro-organisms. III. Effect of by-products of plant growth on activity on fungi and Actinomycetes. Soil Sci. **52**, 395—414.

Waksman, S. A. 1917. Is there any fungus flora of the soil? Soil Sci. **3**, 565—589.

Walker, J. C., Larson, R. H. und Albert, A. R., 1938. Studies of resistance to potato scab in Wisconsin. Amer. Potato Journ., **15**, 246—252.

Waters, R. 1920. Take-all disease in wheat. New Zeeland Journ. Agr. **20**. 137—143.

Winter, A. G. 1948a. Untersuchungen über die Beziehungen zwischen *Ophiobolus graminis* und anderen Organismen mit Hilfe der Aufwuchsplattenmethode. Arch. f. Mikrobiol., **14**, 240—270.

Winter, A. G. 1948b. Ein gegen pflanzenpathogene Pilze stark wirksames Antibiotikum. (Vorl. Mitt.). Ztschr. f. Pflanzenkrankh. (Pflanzenpath.) und Pflanzenschutz, **55**, 333—335.

Winter, A. G. 1949. Rhizosphäre und Krankheitsresistenz. Ztschr. f. Pflanzenkrankh. (Pflanzenpath.) und Pflanzenschutz, **56**, 93—95.

Wollenweber, H. W. 1943. *Fusarium*-Monographie II. Fungi parasitici et saprophytici. Zentralbl. f. Bakteriol. usw. II., **106**, 104—135 und 171—202.

Wollenweber, H. W. und Reinking, O. A., 1935. Die Fusarien. Berlin, Verlag von Paul Parey, 355 S.

Zogg, H. 1949. Über Getreidefußkrankheiten. Verh. Schweiz. Nat. f. Ges., 129. Jahresvers., 153.

Zogg, H. 1950a. Untersuchungen über Fußkrankheiten des Getreides. Schweiz. Ldw. Monatshefte, 28. Jahrgang (7), 250—252.

Zogg, H. 1950b. Über Mischinfektionen bei Fußkrankheiten des Getreides. Schweiz. Ztschr. f. Pathol. und Bakteriol. **8**, 574—579.

Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. H. Braun

Über die Ökologie von *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* in der Rhizosphäre anfälliger und nicht anfälliger Pflanzen

Von
Rosmarie von Rümker

Mit 5 Abbildungen

Inhaltsfolge

Einleitung: Problemstellung, Literatur — Experimenteller Teil: I. Wechselseitige Beziehungen zwischen anfälligen und nicht anfälligen Pflanzen und *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* im Boden; A. Versuche mit *Ascochyta pinodella*; B. Versuche mit *Fusarium culmorum* — II. Untersuchung der für die Wurzelresistenz gegen *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* entscheidenden Faktoren — III. Untersuchung der Wirkungsweise von *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* — IV. Wechselseitige Beziehungen zwischen anfälligen und nicht anfälligen Pflanzen und *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* unter sterilen Bedingungen; C. Schädigung verschiedener Pflanzen in Abhängigkeit von Ernährungsbedingungen; D. Wirkung pflanzlicher Ausscheidungen auf das Wachstum von *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* — Diskussion — Zusammenfassung — Schrifttum.

Einleitung

Problemstellung, Literatur

In zunehmendem Maße häufen sich in den letzten Jahren Berichte aus Wissenschaft und Praxis, denen zufolge Erbsen durch pilzliche Fuß- und Welkekrankheitserreger empfindlicher Schaden zugefügt wurde, der meistens mit erheblichen Ertragseinbußen verbunden war. In Anbetracht der Wichtigkeit, die der Erbse (*Pisum sativum* L.) als landwirtschaftlicher und gärtnerischer Kulturpflanze zukommt, erscheint die Erarbeitung wirksamer und wirtschaftlicher Bekämpfungsmaßnahmen dringend erforderlich. In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, die Kenntnis der Grundlagen für solche Bekämpfungsmaßnahmen zu erweitern.

Nach Noll (1939) waren *Ascochyta pinodella* Jones und *Fusarium*-Arten neben *Rhizoctonia solani* Kühn 1935—1937 die wichtigsten Erreger von Fuß- und Welkekrankheiten der Erbse in Deutschland. Durch eigene Isolationsergebnisse wurden diese Befunde bestätigt. Aus insgesamt 475 Gewebestücken von Stengelbasis und Wurzel zahlreicher kranker Pflanzen verschiedener Mark-, Viktoria- und Felderbsensorten von räumlich weit auseinanderliegenden Herkünften (Bonn, Hessen, Unterfranken) wurden im Sommer 1948 in 30 % aller Fälle *Ascochyta pinodella*, in 32 % aller Fälle *Fusarium*-Arten isoliert. Die anschließend beschriebenen Versuche wurden deshalb mit *Ascochyta pinodella* Jones und *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. durchgeführt.

Über die von Noll (1939) zitierte Literatur hinaus wird über das Auftreten von *Ascochyta pinodella* an Erbsen aus Deutschland (Snyder 1935), Holland (van Poeteren 1930; Meijers 1941), Großbritannien (Wakefield und Moore 1936), USA. (Ala. Agr. Exp. Sta. 1937; Stubbs 1942) und Neusüdwales (Noble 1931) berichtet.

Fusarium culmorum, von Wollenweber und Reinking (1935) als omnivorer Parasit beschrieben, wurde, wie Infektionsversuche ergaben, in einer zumindestens auf Leguminosen weitgehend spezialisierten Form aus einer kranken Pflanze isoliert. Über das Auftreten physiologisch spezialisierter Formen von *Fusarium culmorum* berichten bereits Tu (1929) und Fuchs (1935). Als Fußkrankheitserreger der Erbse wurde *Fusarium culmorum* in Deutschland, Schweden und Italien (Snyder 1935), in Holland (Went 1934), Großbritannien (Padwick 1938) und Argentinien (Marchionatto 1935) nachgewiesen.

Im Hinblick auf praktische Belange erschien es besonders aussichtsreich, das Zusammenleben der Krankheitserreger mit verschiedenen Kulturpflanzen und den Einfluß der Umweltbedingungen auf ihre wechselseitigen Beziehungen einer näheren Untersuchung zu unterziehen. Wir sind bis heute infolge methodischer Schwierigkeiten nur sehr unvollkommen über die Ökologie bodenbewohnender Pflanzenparasiten und ihr Leben im freien Boden und in der Nähe von Wurzeln anfälliger und nicht anfälliger Pflanzen unterrichtet. Sollen aber Maßnahmen der Fruchtfolge, der Bodenbearbeitung und Düngung so abgestimmt werden, daß sie die Verseuchung des Bodens und die Angriffskraft bestimmter Parasiten herabsetzen, die Widerstandskraft der Kulturpflanzen aber stärken, so ist es erforderlich, Einblick in diese Verhältnisse zu gewinnen.

Im Rahmen der Pflanzenhygiene ist es von entscheidender Bedeutung, eine genaue Kenntnis darüber zu besitzen, ob und in welchem Umfang sich parasitische Pilze auch in Abwesenheit ihrer spezifischen Wirtspflanzen im Boden erhalten oder sogar anreichern können. In der Literatur wird vielfach über auffallende Wirkungen einzelner Vorfrüchte oder Fruchtfolgen auf die Verseuchung des Bodens mit bestimmten Parasiten berichtet. Garner, Lunn und Brown (1925) beschreiben eigene, sehr ausgedehnte und eingehende Fruchtfolgeversuche und ähnliche Arbeiten anderer Autoren und stellen abschließend fest, daß eine Anzahl der Versuchsergebnisse sich weder durch die Theorie der Parasitenanreicherung erklären ließ, noch in eine Beziehung zum spezifischen Nährstoffentzug oder zur Beeinflussung der Bodenazidität zu setzen war. Walker und Snyder (1933) und Meijers (1941) fanden, daß die Vermehrung von pilzlichen Krankheitserregern der Erbse im Boden von ihr selbst begünstigt, von anderen Pflanzenarten aber nicht beeinflußt wurde. Rademacher (1934) stellte eine unterschiedliche Beeinflussung des Befalles von Winterweizen durch *Ophiobolus graminis* und *Cercosporella herpotrichoides* durch verschiedene Vorfrüchte fest. Garrett (1944) gibt eine Zusammenstellung weiterer Autoren, die über spezifische Einflüsse bestimmter Fruchtfolgen auf das Auftreten von Fußkrankheiten und die Bodenentseuchung danach berichten. Auch Slykhuis (1947) erhielt bei Infektionsversuchen mit *Fusarium culmorum* in 16 verschiedenen

Bodenarten mit verschiedenen Vorfrüchten bei sonst gleichartigen Infektionsbedingungen beträchtlich variierende Resultate.

Bei der Analyse solcher Erscheinungen muß berücksichtigt werden, daß sich einem Parasiten im freien Boden ganz andere Lebensbedingungen bieten als in der Umgebung von Wurzeln höherer Pflanzen, der Rhizosphäre. Schon für die rein saprophytische Entwicklung eines Pilzes im Boden in Abwesenheit von Pflanzenwurzeln sind die Verhältnisse außerordentlich kompliziert. Der Pilz ist stets den Einflüssen zahlreicher verschiedener Faktoren ausgesetzt, und die Veränderung nur eines Faktors wird immer auch die Wirksamkeit der übrigen in Mitleidenschaft ziehen. Das gilt insbesondere für die biotischen Faktoren, die in natürlichen Böden auf den Parasiten einwirken. Es liegt in der phytopathologischen Literatur eine Reihe von Hinweisen darauf vor, daß das Auftreten von Wurzelkrankheiten stark von der Art des Bodens und dabei insbesondere von seinen mikrobiologischen Eigenheiten abhängt. Erinnert sei hier an Arbeiten von Rosen (1926) über *Fusarium vasinfectum* an Baumwolle, von Walker und Snyder (1933) und Schroeder und Walker (1942) über *Fusarium*-Welken an Erbsen, von Reinking (1935) über eine ganze Reihe verschiedener Krankheiten an verschiedenen Kulturpflanzen und von Moritz (1932), Garrett (1936, 1937, 1938) und Winter (1939, 1942) über *Ophiobolus graminis* an Weizen. Winter (1942) hat eindeutig beweisen können, daß antibiotische Wirkungen seitens der übrigen Bodenmikroorganismen das Auftreten der Ophiobolose im Freiland begrenzen und daß die Bindung dieser Krankheit an bestimmte Böden vor allem eine Folge ihrer mikrobiologischen Eigenart ist. Bei Untersuchung der Entwicklung von 25 verschiedenen Bodenpilzen in natürlichen Böden grundsätzlich verschiedener Art (Winter 1950b) konnte sichergestellt werden, daß nur bei 2 Pilzen Nährstoffmangel, bei den übrigen 23 dagegen der Gehalt des Bodens an Hemmungsstoffen der begrenzende Faktor für ihre Entwicklung war.

Diese Feststellung gewinnt besondere Bedeutung, wenn wir berücksichtigen, daß die wurzelnahe Zone sich durch einen außerordentlichen Mikrobenreichtum auszeichnet. Für das Zustandekommen einer Infektion des Wirtes vom Boden her ist ja das Vorhandensein des Parasiten im Boden allein nicht ausschlaggebend; vielmehr muß der Parasit mit seinem Wirt in innige Berührung kommen, was nicht ohne Durchdringung und Durchsetzung der die Wurzel umgebenden mikrobenreiche Hülle möglich ist (Winter und von Rümker 1950).

Durch Wurzelausscheidungen schafft die höhere Pflanze in ihrer wurzelnahen Zone gegenüber dem freien Boden Sonderbedingungen, unter denen sich eine quantitativ und wohl auch qualitativ von der Mikropopulation des freien Bodens differenzierte Rhizosphärenmikroflora ansiedelt. Rippel (1939) gibt eine Zusammenstellung von Arbeiten, die über den Sondercharakter der Rhizosphäre berichten. Gräf (1930) beobachtete einen spezifischen Einfluß verschiedener Pflanzenarten auf die Gesamtkeimzahl in der wurzelnahen Zone sowohl als auch auf die physiologische Leistung der Rhizosphärenmikroflora. Neuere Versuche von Clark (1949), Clark und Thom (1939) und Timonin (1940 a, b) haben diese Ergebnisse wieder bestätigt und teilweise

erweitert. Es konnte gezeigt werden, daß verschiedene Bodenarten und Düngungsweisen die Rhizosphärenmikroflora bestimmter Pflanzen nur geringfügig beeinflußten, während die Mikropopulation des freien Bodens dadurch merklich verändert wurde. Auch aus den Untersuchungen von Winter (1950 a) über die Entwicklung von *Ophiobolus graminis* im freien Boden und in der Rhizosphäre geht hervor, daß letztere ein Medium sui generis ist, das gegen Einflüsse vom Boden her weitgehend abgeschirmt ist. Lochhead (1940) fand in der wurzelnahen Zone Bakterien mit höherer physiologischer Aktivität und einen merklich höheren Prozentsatz von beweglichen und gefärbten Formen und Glukoseverarbeitern. West und Lochhead (1940) stellten fest, daß die Wurzeln von Flachs- und Tabakpflanzen solche Bakterienarten anreicherten, die wesentlich kompliziertere Nahrungsansprüche hatten als diejenigen der unbepflanzten Kontrollböden, und daß schon die Wurzeln sehr junger Pflanzen solche Arten selektierten, die auf Stickstoff in ganz bestimmten Bindungen angewiesen waren. Lochhead und Thexton (1947) fanden kürzlich die gleichen Verhältnisse auch in der Rhizosphäre anderer Pflanzenarten verwirklicht.

Innerhalb der Rhizosphäre ergeben sich für einen parasitischen Pilz verschiedene Möglichkeiten. Er wird, wenn es sich um eine anfällige Pflanze handelt, in die Wurzel eindringen. Er kann sich aber auch in der Rhizosphäre einer Pflanze infolge besonders günstiger Lebensbedingungen (siehe unten) ausbreiten ohne pathogen zu werden und so — zunächst unmerklich — die Bodenverseuchung erhöhen. Reynolds (1926) und Ezekiel, Taubenhaus und Fudge (1932) sowie mehrere von letzteren zitierte Autoren nehmen an, daß die Resistenz bestimmter Pflanzen gegen bodenbewohnende pflanzenpathogene Pilze in der stofflichen Zusammensetzung dieser Pflanzen begründet sei. Müller-Kögler (1938) fand diese Vermutung für die Resistenz zahlreicher dikotyler Pflanzen gegen *Ophiobolus graminis* nicht bestätigt. Linford (1931 b, c) wurde durch das negative Ergebnis seiner Versuche, die sortenspezifische Resistenz von Erbsen gegen *Fusarium orthoceras* var. *pisi* („wilt") auf bestimmte anatomische oder physiologische Besonderheiten oberirdischer Pflanzenteile zurückzuführen, zu der Vermutung veranlaßt, daß die Resistenz in der Wurzel lokalisiert sei. Diese Schlußfolgerung legte in Verbindung mit der Entdeckung des Sondercharakters der Rhizosphäre den Gedanken an eine Beeinflussung der Resistenz durch die Rhizosphärenmikroflora nahe. Eigene Tastversuche, über die in einer vorläufigen Mitteilung (Winter und von Rümker 1950) schon berichtet worden ist, ließen die eingehendere Untersuchung dieser Frage ebenso wichtig wie aussichtsreich erscheinen, um so mehr, als es Lochhead, Timonin und West (1940 a, b) gelang, eine Korrelation zwischen der Anfälligkeit verschiedener Flachssorten gegen Welke und einiger Tabaksorten gegen Wurzelfäule einerseits und morphologischen und physiologischen Unterschieden ihrer jeweiligen Rhizosphärenmikroflora andererseits nachzuweisen. Darüber hinaus konnten Eaton und Rigler (1946) die Resistenz von Mais gegen *Phymatotrichum omnivorum* durch Ausschaltung der Rhizosphärenmikropopulation entscheidend umstimmen. Gleiches berichten Virgin und Walker (1940) von der sortenspezifischen

Resistenz von Erbsen gegen *Fusarium oxysporum* f. 8 Snyder, ohne allerdings dafür eine Erklärung zu geben.

Es war von vornherein klar, daß die aufgezeigten Probleme mit Hilfe von Infektionsversuchen unter natürlichen Bedingungen nur bis zu einer bestimmten, durch die Natur dieser Methode bedingten Grenze würden bearbeitet werden können. Auf dem Wege zu einer eingehenderen Analyse war außer der Frage nach den Ursachen der Wurzelresistenz nach Möglichkeit weiter zu klären, auf welche Weise die Erreger die Erkrankung des Wirtes hervorrufen. Hierüber liegen für *Ascochyta pinodella* keine, für *Fusarium*-Arten dagegen verschiedene Hinweise in der Literatur vor. Linford (1931a) fand, daß die durch *Fusarium orthoceras* var. *pisi* verursachte Welke von Erbsen nicht durch Störung der Wasserversorgung, also weder durch eine Tracheomykose noch durch Zerstörung der Leitungsbahnen des Stengels, sondern vielmehr durch übermäßig hohen Wasserverlust der Pflanze infolge Zerstörung der wasserhaltenden Kraft der Protoplasten der Blattzellen hervorgerufen wird. Neuere Versuche von Gottlieb (1944) erbrachten das gleiche Ergebnis für die *Fusarium*-Welke von Tomaten. Gottlieb stellte fest, daß die Permeabilität der Zellen durch die Wirkung eines Toxins, das im Saftstrom infizierter Pflanzen nachweisbar war, krankhaft gesteigert wurde. Dieses Agens war in nicht infizierten Pflanzen weder im normalen Zustand vorhanden, noch konnte es bei Exemplaren gefunden werden, die durch Wasserentzug zum Welken gebracht worden waren. Daraus ließ sich vermuten, daß die Krankheitssymptome nicht durch die direkte Wirksamkeit des Pilzes, sondern durch von diesem ausgeschiedene Stoffwechselprodukte hervorgerufen werden. Die Richtigkeit dieser Folgerung ist auch von anderen Autoren bewiesen worden. Rosen (1926) konnte zeigen, daß die *Fusarium*-Welke von Baumwolle durch die Aktivität toxischer Substanzen verursacht wird. Das Vorhandensein welkeauslösender Stoffe in Filtraten pilzbewachsener Nährlösungen fand außer ihm White (1927) bei Untersuchung der *Fusarium*-Welke von Tomaten. Haymaker (1928) stellte eine direkte Beziehung zwischen der Pathogenität von *Fusarium lycopersici* und der Toxizität der Stoffwechselprodukte dieses Pilzes fest. Went (1934) untersuchte den Krankheitsverlauf an mit *Fusarium culmorum* infizierten Erbsenpflanzen und konnte auf verschiedenen Wegen bestätigen, daß auch hier die Schädigung der Wirtspflanze primär nicht durch aktives Eindringen der Pilzhyphen in die Wurzel, sondern vielmehr durch Ausscheidungen des Pilzes hervorgerufen wird.

Damit erhebt sich die Frage, ob ein Pilz, der in erster Linie durch toxische Stoffwechselprodukte Krankheitssymptome verursacht, überhaupt im Boden mit seiner spezifischen Wirtspflanze in direkte Berührung kommen muß, um die Erkrankung hervorzurufen. Linford (1931b) hat an dem schon zitierten Beispiel der Fusariose von Erbsen dieses Problem untersucht. Es gelang ihm nicht, das Vorhandensein toxischer Substanzen in der Bodenlösung nachzuweisen. Mannozzi-Torini (1932) stellte fest, daß toxische Stoffwechselprodukte von Pilzen im Boden meist vollständig sorbiert und damit wirkungslos werden. Danach kann als gesichert angesehen werden, daß auch für solche Pilze unter natürlichen Bedingungen die innige Berührung mit dem

Wirt Voraussetzung für das Zustandekommen einer Erkrankung ist, daß also auch in diesen Fällen der Parasit gezwungen ist, sich mit der Rhizosphärenmikroflora seines Wirtes auseinanderzusetzen.

Die Versuchsergebnisse von Schroeder und Walker (1942) deuten darauf hin, daß zunächst auf seiten des Parasiten die spezifische Fähigkeit zum Aufbau eines bestimmten Toxins gegeben sein muß. Die genannten Autoren fanden bei kreuzweisen Infektionsversuchen mit Tomaten-, Kohl- und Erbsenpflanzen und ihren entsprechenden welkeerregenden *Fusarien*, daß die nicht spezifischen Formen in die fremden Wirte zwar einzudringen vermochten, daß dabei jedoch keine Welke eintrat. Das spezifische Erbsen-*Fusarium*, *Fusarium oxysporum* var. *pisi*, besiedelte zwar die Erbsenpflanzen auch nicht weiter, als es die nicht spezifischen Formen taten, rief aber die typischen Welkesymptome hervor.

Die zweite notwendige Voraussetzung für die Produktion eines Toxins scheint das Vorhandensein bestimmter Ausgangsstoffe im Substrat des Pilzes zu sein. Rosen (1926) stellte fest, daß die chemische Zusammensetzung verschiedener Nährlösungen, die er von *Fusarium vasinfectum* bewachsen ließ, darüber entschied, ob und in welchem Ausmaß die davon gewonnenen Kulturfiltrate auf Baumwollpflanzen toxisch wirkten.

Experimenteller Teil

Sowohl *Ascochyta pinodella* als auch *Fusarium culmorum* wurden aus kranken Pflanzen isoliert [1]).

In sämtlichen Versuchen wurden Samen der gleichen Sorten und Herkünfte verwendet, und zwar: Saaterbse (*Pisum sativum* L.) Lohmanns Weender grünbleibende Folgererbse; Felderbse (*Pisum arvense* L.) Hohenheimer rosablübende Felderbse; Wicke (*Vicia pannonica* Cr.) Pörnbacher Toerrings Wicke; Mais (*Zea Mays* L.) Amerikanischer Hybridenmais, Sortenbezeichnung unbekannt; Weizen (*Triticum sativum* L.) von Rümkers frühreifer Dickkopf-Sommerweizen; Raps (*Brassica Napus* L. *oleifera* Metzg.) Janetzkis Winterraps.

I. Wechselseitige Beziehungen zwischen anfälligen und nicht anfälligen Pflanzen und *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* im Boden

Vorversuche galten zunächst der Ermittlung der geeignetsten Infektionsweise für Topfversuche. Sie ergaben, daß die von Garrett (1936) zuerst beschriebene Methode des Unterlegens von pilzdurchwachsenen, mit dem Korkbohrer ausgestanzten Agarscheiben unter den keimenden Samen der Bodeninfektion sowie auch der Infektion durch Konidienaufschwemmungen vorzuziehen war. Die Garrettsche Methode ermöglichte eine sehr gleich-

[1]) *Ascochyta pinodella* wurde nach den eingehenden Beschreibungen der von Noll (1939) zitierten Autoren identifiziert. *Fusarium culmorum* konnte nach dem *Fusarium*-Werk von Wollenweber und Reinking (1935) bestimmt werden. Die Verfasserin ist Herrn Prof. Dr. Schaffnit, der die Identität von *Fusarium culmorum* freundlicherweise bestätigte, dieserhalb zu besonderem Dank verpflichtet.

mäßige und sichere Infektion mit so geringen Mengen von Infektionsmaterial, daß das natürliche mikrobiologische Gleichgewicht des Bodens dadurch nicht wesentlich verändert werden konnte. Die Pilze wurden in Petrischalen auf 3 prozent. Rübensirupagar gezogen. Die Kulturen wurden stets erst im Alter von einigen Wochen zur Infektion verwandt, wenn die im Substrat enthaltenen Nährstoffe schon von dem Pilz selbst so stark erschöpft waren, daß die in den Boden eingebrachten pilzdurchwachsenen Agarscheiben als Nährböden für andere Organismen keine Rolle mehr spielen konnten. Der Durchmesser der Agarscheiben wurde, wenn nicht anders angegeben, jeweils der Samengröße angepaßt und variierte von 0,7—1,2 cm.

Die Samen wurden 15 Minuten in 15 prozent. Alkohol mit einem Zusatz von 0,1 % $HgCl_2$ oberflächensterilisiert, in sterilem destilliertem Wasser ausgespült und in einer anderen Portion sterilen destillierten Wassers bis zum Auslegen 24 Stunden eingequollen. Sie wurden auf die Agarscheiben so aufgelegt, daß die hervorbrechenden Wurzeln zum Durchwachsen derselben gezwungen waren.

Die Pflanzen wurden in viereckigen Blumentöpfen von $14 \times 14 \times 10$ cm^3 gezogen.

A. Versuche mit *Ascochyta pinodella*

1. Krankheitssymptome an Erbsen

Infektionsversuche an Saaterbsen in verschiedenen Bodenarten ergaben die teilweise schon im Freiland beobachteten typischen Krankheitsbilder, nämlich Schwärzung der Blattachseln, der Stengelbasis und der Wurzel, insbesondere des Wurzelhalses. *Ascochyta pinodella* konnte aus verfärbten Gewebestücken von Stengel und Wurzel rückisoliert werden. Im Aufgang zeigten sich keine Unterschiede zwischen Versuchs- und nicht infizierten Kontrollreihen; eine nachhaltigere Schädigung der Pflanzen durch *Ascochyta pinodella* tritt also offenbar erst in einem späteren Wachstumsstadium ein.

2. Beeinflussung von *Ascochyta pinodella* durch die Erbse

Zwei Serien Saaterbsen wurden nach der eben beschriebenen Methode in einem Gemisch von Gartenerde und Sand im Verhältnis 2 : 1 mit *Ascochyta pinodella* infiziert, und zwar in Serie I 10 Töpfe mit je $9 = 90$ Samen, in Serie II 8 Töpfe mit je $9 = 72$ Samen. Zusätzlich wurden in jeder Serie 2 Töpfe mit je $9 = 18$ nicht infizierten Samen aufgestellt.

In Serie I wurden nach 45 Tagen die oberirdischen Pflanzenteile entfernt. Danach wurde aus allen Töpfen die Erde mit den darin enthaltenen Erbsenwurzeln zusammengeschüttet, sorgfältig vermischt und wieder in Töpfe eingefüllt, wobei der infizierte Teil des Versuches von dem nicht infizierten selbstverständlich getrennt gehalten wurde. Die frisch gefüllten Töpfe wurden wieder mit Erbsen besät, ohne daß eine erneute Infektion mit *Ascochyta pinodella* erfolgte. Nach 37 Tagen wurde in diesem zweiten Erbsenbestand die Anzahl kranker Pflanzen festgestellt, indem von der Anzahl der in einer Reihe insgesamt ausgelegten Samen die Anzahl der gesunden Pflanzen in dieser Reihe abgezogen wurde. Die nicht aufgelaufenen Pflanzen wurden also als kranke Pflanzen gewertet.

Darauf wurden nochmals die oberirdischen Pflanzenteile entfernt, und mit sämtlichen Töpfen des zweiten Erbsenbestandes wurde ein zweites Mal in der eben beschriebenen Weise verfahren. Auch die dritte Erbsenaussaat wurde nicht erneut infiziert. Nach wiederum 37 Tagen wurde die Anzahl kranker Pflanzen auch hier ermittelt.

In Serie II wurde der erste, mit *Ascochyta pinodella* infizierte Erbsenbestand bis zur Reife ungestört gelassen. Nach 90 Tagen wurde mit sämtlichen Töpfen dieser Serie ebenfalls in der oben beschriebenen Weise verfahren. Die Anzahl kranker Pflanzen des zweiten Erbsenbestandes dieser Serie wurde wiederum nach 37 Tagen festgestellt.

Zugleich mit der Aussaat des dritten Erbsenbestandes in Serie I und des zweiten Bestandes in Serie II wurden als Kontrolle im selben, aber vorher unbewachsenen Bodengemisch in 7 Töpfen je 16 = 112 Samen ausgelegt. Auch hier wurde nach 37 Tagen die Anzahl kranker Pflanzen ermittelt.

Die Ergebnisse des gesamten Versuches sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1

Ergebnis eines kombinierten Erbsen-Monokulturversuches

	Serie I				Serie II		Kontrolle
Anzahl Tage, die der Boden vor der Aussaat des untersuchten Bestandes von Erbsen bewachsen war	45		45 + 37 = 82		90		—
Der untersuchte Bestand ist auf demselben Boden der	2. Erbsenbestand		3. Erbsenbestand		2. Erbsenbestand		1. Erbsenbestand
Der 1. Erbsenbestand war mit *A. pinodella*	infiziert	nicht infiziert	infiziert	nicht infiziert	infiziert	nicht infiziert	nicht infiziert
Anzahl ausgelegter Samen .	81	18	80	16	96	32	112
Kranke Pflanzen nach 37 Tg.: Anzahl	40	7	34	7	57	17	38
in % der ausgelegt. Samen	49,4	38,9	42,5	43,8	59,4	53,1	33,9

Das Saatgut wurde vor der Verwendung gründlich handverlesen, um den Krankheitsbefall durch im oder am Samen übertragbare Erreger auf ein Minimum herabzudrücken. Der relativ hohe Anteil kranker Pflanzen in den nicht infizierten Reihen und in der Kontrolle ist also wohl vor allem der Tätigkeit von pathogenen Organismen zuzuschreiben, die im Boden vorhanden waren.

Eine spezifische Wirkung von *Ascochyta pinodella* ist nur im zweiten Erbsenbestand nach 45 Tagen (Serie I) festzustellen, nach 90 Tagen (Serie II) ist sie nur noch ganz geringfügig bemerkbar, während sie im dritten Erbsenbestand nach insgesamt 82 Tagen völlig aufgehoben war. Eine spezielle Anreicherung von *Ascochyta pinodella* trat also im Boden unter der anfälligen Erbse nicht ein. Dagegen fällt im zweiten Erbsenbestand in Serie II der in der infizierten und nicht infizierten Reihe gleichermaßen hohe Anteil kranker Pflanzen auf. Dieser Befund deckt sich mit den bereits zitierten Feststellungen

von Walker und Snyder (1933) und Meijers (1941), daß die Erbse ihr selbst schädliche Krankheitserreger im Boden anreichert.

3. Beeinflussung von *Ascochyta pinodella* durch nicht anfällige Pflanzen

Saaterbsen, Mais und Weizen wurden in sterilisiertem Sand, sterilisierter und nicht sterilisierter Gartenerde und sterilisierter und nicht sterilisierter Komposterde mit *Ascochyta pinodella* infiziert. Dabei wurden für jede dieser insgesamt also 5 Bodenarten bei der Erbse je 3 Töpfe mit je 9 = 27 Samen, bei Mais und Weizen je ein Topf mit 16 Samen besät.

Nach 13 Tagen wurden Pflanzen zur Untersuchung entnommen. Die Erbsen zeigten die bekannten Krankheitssymptome. Weder Mais noch Weizen ließen die geringste Schädigung oder Wachstumshemmung im Vergleich mit den nicht infizierten Kontrollpflanzen erkennen. Bei allen drei Pflanzenarten zeigten sich keine merklichen Unterschiede zwischen den Töpfen mit sterilisiertem und nicht sterilisiertem Boden.

Zwei Monate nach Versuchsbeginn wurden die Mais- und Weizenpflanzen durch vorsichtiges Absieben so sorgfältig wie möglich vom anhaftenden Boden befreit, nachdem die Töpfe vorher einige Tage trocken gehalten worden waren, um das Durchsieben zu erleichtern. Bei gründlicher Untersuchung verschiedener Pflanzen zeigte sich makroskopisch auch jetzt nicht der geringste Unterschied zwischen infizierten und nicht infizierten Pflanzen. Einzelne Pflanzen wurden vorsichtig unter fließendem Wasser ausgespült und in sterilem destilliertem Wasser mehrmals ausgeschüttelt. Von diesen Pflanzen wurden Gewebestücke aus dem untersten Teil des Halmes und aus dem ersten Halmknoten und Stücke aus allen Teilen der Wurzel teils auf Agar ausgelegt, teils mikroskopisch untersucht. Übereinstimmend ließ sich auf beide Arten nachweisen, daß insbesondere die Samenschale von Weizen *Ascochyta pinodella* einen günstigen Nährboden zu bieten scheint. Auf den Agarplatten wuchsen Kolonien von *Ascochyta pinodella* aus, und alle untersuchten Samenschalen und viele Gewebestücke aus der Gegend des untersten Halmknotens waren dicht von *Ascochyta*-Myzel besiedelt. Auch hier zeigten sich besondere Unterschiede weder zwischen sterilisiertem und nicht sterilisiertem Boden noch zwischen den einzelnen Bodenarten. An den verschiedenen Wurzelteilen ließ sich *Ascochyta pinodella* dagegen mikroskopisch nicht nachweisen. Auf den Agarplatten zeigte sich ebenfalls kein *Ascochyta*-Myzel, wohl aber erschienen zahlreiche Kolonien von Bakterien und schnellwüchsigen Pilzen. Es bestand indessen die Möglichkeit, daß an der Wurzeloberfläche eventuell vorhandenes *Ascochyta*-Myzel der Konkurrenz der zahlreichen anderen, schneller wachsenden Organismen auf dem Agar unterlegen war, von ihnen unterdrückt wurde und so auf den Platten nicht in Erscheinung trat. Daher wurde versucht, eine mögliche Ausbreitung von *Ascochyta pinodella* in der Rhizosphäre von Mais und Weizen oder eine Anreicherung des Pilzes im freien Boden unter diesen Pflanzen indirekt nachzuweisen.

Serie I: Die durchgesiebte Erde aus den je 5 Töpfen (s. o.) der insgesamt 4 Versuchsreihen (Mais bzw. Weizen mit und ohne *Ascochyta pinodella*) wurde vermischt, so daß ein Bodengemisch von Komposterde, Gartenerde und Sand

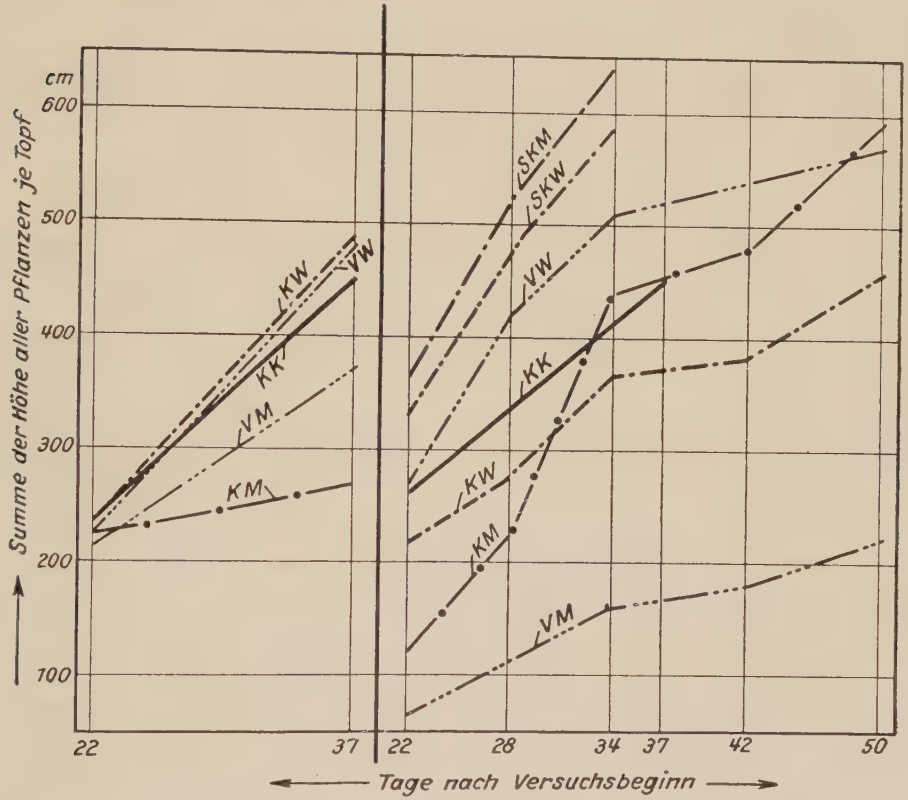
im Verhältnis 2 : 2 : 1 entstand, das in je 3 Töpfe wieder eingefüllt wurde. Als Kontrolle wurden 6 weitere Töpfe mit dem gleichen, aber vorher nicht bewachsenen Bodengemisch aufgestellt. Jeder Topf wurde mit 16 Erbsensamen belegt, so daß sich die Beobachtungen in den Versuchsreihen auf je $3 \times 16 = 48$, in der Kontrollreihe auf $6 \times 16 = 96$ ausgelegte Samen beziehen.

Serie II: Die abgesiebten Mais- und Weizenpflanzen wurden in je drei gleichgroße Portionen aufgeteilt, und zwar in je einen Teil mit *Ascochyta pinodella* infizierter Pflanzen und in je zwei Teile nicht infizierter Pflanzen, wobei Wurzelwerk und grüne Pflanzenteile noch nicht wie in einem späteren Versuch voneinander getrennt wurden. Die Hälfte der nicht infizierten Pflanzen wurde im Autoklaven sterilisiert. Diese insgesamt sechs verschiedenen, gleichgroßen Portionen Pflanzenmasse (Mais und Weizen jeweils: 1. infiziert, nicht steril; 2. nicht infiziert, nicht steril; 3. nicht infiziert, steril) wurden in trocken sterilisierte Komposterde, die in sechs sorgfältig ausgeflammte Töpfe eingefüllt worden war, sozusagen als Gründüngung vorsichtig eingebracht. Die Töpfe wurden danach mit sterilem destilliertem Wasser angefeuchtet und ebenfalls mit je 16 Erbsensamen besät, so daß sich in dieser Serie die Ergebnisse auf Beobachtungen an nur je 16 ausgelegten Samen stützen.

In beiden Serien wurden die auflaufenden Erbsenpflanzen genau beobachtet, und in zeitlichen Abständen, die aus der graphischen Darstellung 1 ersichtlich sind, wurden die folgenden beiden Werte festgestellt: 1. die durchschnittliche Anzahl kranker Pflanzen je Topf (= 16 abzüglich der durchschnittlichen Anzahl gesunder Pflanzen je Topf; auch hier wurden also, wie im vorigen Versuch, die nicht aufgelaufenen Pflanzen als kranke Pflanzen gezählt), und 2. der Durchschnitt der Summe der Höhe aller Pflanzen eines Topfes (dieser Wert kann auch als laufende Zentimeter produzierter Stengellänge je Topf definiert werden und errechnet sich aus der Summe der Höhe aller Pflanzen einer Versuchsreihe dividiert durch die Anzahl der Töpfe in dieser Reihe). Mit Hilfe dieses zweiten Wertes ließen sich die auftretenden Wachstumsunterschiede mit großer Genauigkeit zahlenmäßig erfassen und im Laufe der Entwicklung der Pflanzen verfolgen. Die dadurch ermöglichte graphische Darstellung des Wachstumsverlaufes erlaubte eine exakte Auswertung des Versuches. Innerhalb einer Reihe verhielt sich der erste Wert (Anzahl kranker Pflanzen je Topf) zum zweiten (Summe der Höhe aller Pflanzen je Topf) stets umgekehrt proportional, so daß auf die Mitberücksichtigung des ersten Wertes bei der graphischen Darstellung des Versuchsergebnisses zugunsten größerer Einfachheit und Übersichtlichkeit verzichtet werden konnte.

Im freien Boden wird also (Graphische Darstellung 1, Serie I, linker Teil) weder durch Mais noch durch Weizen die Ausbreitung von *Ascochyta pinodella* besonders begünstigt; die Kurven KM und VM bzw. KW und VW liegen dicht beieinander. Der Mais beeinflußte jedoch die Beschaffenheit des Bodens in einer auf die Erbse ungünstig wirkenden Weise, denn die Entwicklung der Erbsen war in beiden maisbewachsenen Böden deutlich schlechter als im weizen- und im unbewachsenen Boden; die Kurven KM und VM liegen tiefer als die Kurven KW und VW und auch deutlich tiefer als die Kurve KK des unbewachsenen Kontrollbodens.

Von den Erbsen, die in dem Gemisch von Pflanzenmasse und sterilisierter Komposterde wuchsen, kann nach der Versuchsanordnung mit hoher Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß sie vorwiegend den Einflüssen der Mikroben aus der Rhizosphäre der betreffenden Pflanzen ausgesetzt waren (Serie II, rechter Teil der graphischen Darstellung 1; zur Orientierung wurde



Kurve KK = unbewachsener Kontrollboden
„ KM = nicht infizierter Mais
„ KW = nicht infizierter Weizen
„ VM = mit *Ascochyta pinodella* infizierter Mais
Kurve VW = mit *Ascochyta pinodella* infizierter Weizen
„ SKM = nicht infizierte, sterilisierte Maispflanzen
„ SKW = nicht infizierte, sterilisierte Weizenpflanzen

Graphische Darstellung 1

Wachstum von Erbsen

Serie I: Im „freien Boden" nach Mais bzw. Weizen als Vorfrucht

Serie II: In sterilisierter Komposterde, vorwiegend dem Einfluß der Organismen aus der Rhizosphäre von Mais- bzw. Weizenpflanzen ausgesetzt

die Kurve KK des unbewachsenen Kontrollbodens auch hier eingezeichnet). Trotz der geringen Anzahl Pflanzen in diesem Versuchsteil ist die Abweichung der Kurve VM als gesichert anzusehen; *Ascochyta pinodella* wird also in der Rhizosphäre von Mais besonders angereichert. Spätere Versuche ergaben,

daß besonders von den Wurzelspitzen von Mais Stoffe ausgeschieden werden, die das Wachstum von *Ascochyta pinodella* außerordentlich begünstigen (S. 90).

Aus der graphischen Darstellung 1 läßt sich ferner ersehen, daß durch die Sterilisation der Pflanzenmasse beträchtliche, auf die Entwicklung der Erbse hemmend wirkende Einflüsse beseitigt wurden. Das Wachstum der Erbsen in diesen beiden Töpfen eilte dem in den anderen Töpfen so rasch voraus, daß schon nach 42 Tagen ein Ausmessen der Pflanzen nicht mehr möglich war (Kurven SKM und SKW).

B. Versuche mit *Fusarium culmorum*

1. Infektionsversuch an Erbsen, Mais und Weizen

Je 16 Samen von Saaterbse, Mais und Weizen wurden nach der S. 61 beschriebenen Methode in Komposterde mit *Fusarium culmorum*-durchwachsenen Agarscheiben infiziert mit der Abweichung, daß die Samen in ungequollenem Zustand unmittelbar nach der Oberflächensterilisation ausgelegt wurden. Die gleiche Anzahl nicht infizierter Samen wurde gleichzeitig in dieselbe Komposterde unter sonst gleichen Bedingungen als Kontrolle ausgelegt.

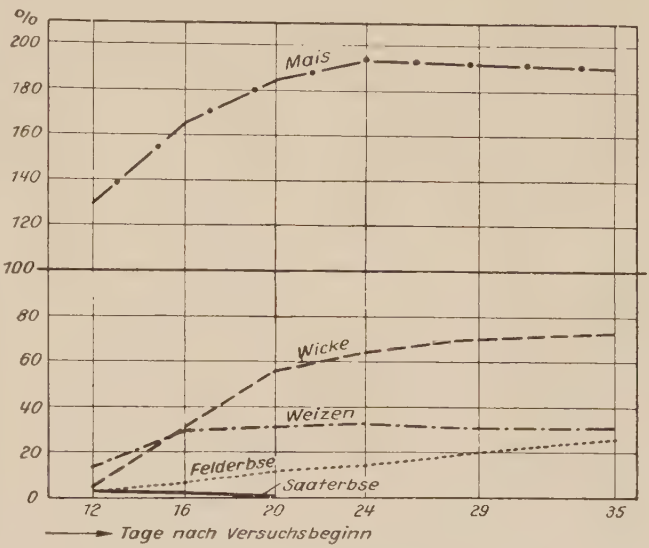
Acht Tage nach der Aussaat war in der infizierten Erbsenreihe noch keine Pflanze aufgelaufen. Bei späterer Untersuchung stellte sich heraus, daß sämtliche Keimlinge schon vor Erreichen der Bodenoberfläche dem Angriff des Pilzes erlegen waren, während die Pflanzen der nicht infizierten Kontrollreihe sich gesund und kräftig entwickelten. Die Mais- und Weizenpflanzen dagegen liefen in den infizierten und nicht infizierten Reihen gleichmäßig gut auf. Acht Tage nach Versuchsbeginn wurden aus allen Töpfen einzelne Pflanzen entnommen, wobei zwischen den Kontroll- und den infizierten Reihen keinerlei Unterschiede zu bemerken waren.

2. Infektionsversuch an Saaterbsen, Felderbsen, Wicken, Mais und Weizen

In einem Gemisch von Komposterde und Sand im Verhältnis 2 : 1 wurden in je 2 Töpfen je 32 Samen von Saaterbse, Felderbse, Wicke, Mais und Weizen mit *Fusarium culmorum* infiziert. Die auf S. 61 angegebene Methode wurde dabei in der Weise abgewandelt, daß die Samen im Anschluß an 24stündiges Quellen in sterilem destilliertem Wasser weitere 24 Stunden auf sterilem feuchtem Filtrierpapier aufbewahrt und erst nach dieser Vorbehandlung mit den pilzdurchwachsenen Agarscheiben zusammen in den Boden eingebracht wurden. Die gleiche Anzahl nicht infizierter Samen wurde unter denselben Bedingungen als Kontrolle ausgelegt. In Abständen von 4, dann 5 und später 6 Tagen wurde nach der S. 64 beschriebenen Methode die durchschnittliche Summe der Höhe aller Pflanzen je Topf ermittelt. Der graphischen Darstellung 2 wurden nicht die festgestellten absoluten Zahlen zugrunde gelegt, sondern sämtliche in den infizierten Versuchsreihen gefundenen Messungsergebnisse wurden auf die Ergebnisse der ihnen entsprechenden, nicht infizierten Kontrollen, die gleich 100 gesetzt wurden, bezogen.

Bei der Saaterbse trat wiederum, wie im vorigen Versuch, ein 100prozent. Schaden ein; die einzige aufgelaufene Pflanze starb nach kurzer Zeit wieder ab. Die Felderbse zeigte sich bereits etwas widerstandsfähiger.

Die anfangs starke Schädigung der Wicken erklärt sich daraus, daß die infizierten Pflanzen eine volle Woche später aufliefen als die Kontrolle, deren Vorsprung sie jedoch im Laufe von 4 Wochen weitgehend wieder einholen konnten. Auffallend war die ausgesprochene Begünstigung der Maispflanzen durch die Infektion mit *Fusarium culmorum*. In der Maisserie liefen die Pflanzen der infizierten und der nicht infizierten Reihe gleichzeitig auf, die infizierten Pflanzen eilten den Kontrollen im Wachstum jedoch bald voraus und behielten im weiteren Verlauf der Entwicklung diesen Vorsprung. Wie in späteren Versuchen sichtbar gemacht werden konnte (S. 93—94), scheidet der keimende Samen in beträchtlichem Umfang Stoffe an seine Umgebung ab. Es ist anzunehmen, daß diese Samenausscheidungen innerhalb einer bestimmten Zone in der Nähe des Samens ein im Vergleich zum freien Boden verändertes Milieu schaffen, das Mikroorganismen günstigere Lebensbedingungen bietet. Da nach der angewandten Methode *Fusarium culmorum* unmittelbar an der Oberfläche des keimenden Samens mit diesem zusammen in den Boden gelangte, läßt sich vermuten, daß innerhalb dieser samennahen Zone eine starke Ausbreitung des Pilzes einsetzte, die die gleichzeitige Anreicherung anderer Mikroben zumindestens einschränkte. Wahrscheinlich wurden so auch solche Organismen aus der unmittelbaren Umgebung der jungen Keimpflanzen ferngehalten, die ihr Wachstum hätten hemmen können. Da *Fusarium culmorum* den Mais im natürlichen Boden nicht schädigt, könnte in diesem Verdrängungseffekt die Ursache für das bessere Wachstum der infizierten Pflanzen gesehen werden. Eine ähnliche Wirkung fehlte bei den anderen Pflanzen vermutlich deshalb, weil sie durch *Fusarium culmorum* selbst mehr oder weniger stark geschädigt wurden. Diese Ausdeutung des vorliegenden Befundes gewinnt durch die Beobachtungen von Slykhuis (1947) an Wahrscheinlichkeit, dessen Veröffentlichung der Verfasserin erst nach Abschluß der in diesem Abschnitt zusammengefaßten Versuche zugänglich wurde. Slykhuis fand, daß die Schädigung von Keimlingen zweier Gräserarten durch *Fusarium culmorum* von der Konzentration des Pilzes in



Graphische Darstellung 2

Wachstum von Saaterbsen, Felderbsen, Wicken, Mais und Weizen nach Infektion mit *Fusarium culmorum*, dargestellt in Relation zur Entwicklung der entsprechenden nicht infizierten Kontrollpflanzen = 100

der unmittelbaren Umgebung des Samens abhängig war. Er gibt dieser Zone die Bezeichnung „Spermatosphäre".

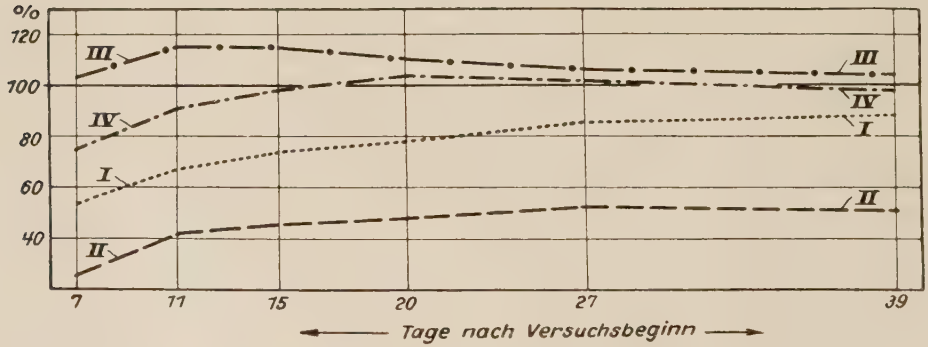
Die viel stärkere Schädigung des Weizens im vorliegenden Versuch ließ sich mit dem Ergebnis des vorhergehenden Versuches B 1 zunächst nicht in Einklang bringen. Die Verhältnisse beim Weizen wurden deshalb einer erneuten eingehenderen Prüfung unterzogen.

Im weiteren Verlauf der Entwicklung blieben die Unterschiede zwischen den Versuchs- und Kontrollreihen konstant, was schon innerhalb des in der graphischen Darstellung 2 erfaßten Zeitraumes dadurch zum Ausdruck kommt, daß der Verlauf aller Kurven sich immer mehr der Waagerechten annähert.

3. Infektionsversuch an Weizen

In Gartenerde und Sand in zwei verschiedenen Mischungsverhältnissen wurden Weizensamen mit *Fusarium culmorum* infiziert. Das Ergebnis wurde in der gleichen Weise wie im vorigen Versuch erfaßt (Graphische Darstellung 3). Die Anzahl ausgelegter Samen, auf die sich die Beobachtungen in jeder Serie beziehen, und die einzelnen Variationen sind aus der Zeichenerklärung ersichtlich. Die Infektionsweise war die gleiche wie im vorhergehenden Versuch mit den Abweichungen, daß in Serie III die pilzdurchwachsenen Agarscheiben durch eine etwa 1 cm starke Bodenschicht von den Samen getrennt wurden und daß in Serie IV die Samen nicht 2, sondern erst 3 Tage nach dem Beizen und Einquellen ausgelegt wurden.

Ein Vergleich der Kurven I und II zeigt, daß mit Erhöhung des Sandanteiles an der Bodenmischung die Schädigung der infizierten Pflanzen zunahm. Dieser Befund deckt sich mit den Feststellungen anderer Autoren



Bezeichnung der Kurve	I	II	III	IV
Mischungsverhältnis Gartenerde : Sand	3 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1
Aussaattermin, Tage nach dem Einquellen	2	2	2	3
Abstand Samen — Pilzscheibe, cm	0	0	1	0
Anzahl infizierter Samen	40	80	18	18
Anzahl nicht infizierter Samen in der entsprechenden Kontrolle	40	40	40	18

Graphische Darstellung 3

Wachstum von Weizen nach Infektion mit *Fusarium culmorum* bei Variation des Mischungsverhältnisses von Gartenerde und Sand und der Infektionsweise, dargestellt in Relation zur Entwicklung der entsprechenden nicht infizierten Kontrollpflanzen = 100

(S. 57), daß in leichten Böden Schädigungen verschiedener Kulturpflanzen durch bodenbewohnende pflanzenpathogene Pilze heftiger auftreten. Teilweise mag sich daraus auch die unerwartet schlechte Entwicklung der infizierten Weizenpflanzen im vorigen Versuch B 2 erklären, der in einem Gemisch von Komposterde und Sand angelegt wurde, während in dem davor beschriebenen Versuch B 1 (S. 66) reine Komposterde verwendet worden war.

Es wird vermutet, daß daneben auch der Quellungsgrad des Samens und das Entwicklungsstadium des Embryos zum Zeitpunkt des Auslegens in den Boden von Bedeutung sind. In den Serien I—III des vorliegenden Versuches gelangten die Samen 2 Tage nach Beginn der Quellung in den Boden, als wahrscheinlich die Abgabe von Stoffen schon in gewissem Umfang eingesetzt hatte, wodurch dem Pilz ein besonders günstiges Milieu geboten wurde. Dagegen erfolgte im Versuch B 1 die Aussaat der Samen in lufttrockenem Zustand, so daß der Pilz zunächst ohne eine Nährstoffbasis den zum Teil wohl antagonistischen Einflüssen anderer Bodenmikroorganismen ausgesetzt war und dadurch in seiner Aggressivität möglicherweise geschwächt wurde. Diese Annahme gewinnt durch den Wachstumsverlauf in Serie III des vorliegenden Versuches an Wahrscheinlichkeit. Obgleich sich die Ergebnisse der Serien III und IV auf Beobachtungen an einer geringeren Anzahl Pflanzen stützen, darf doch als gesichert angesehen werden, daß die Entwicklung der infizierten Pflanzen in diesen beiden Serien von der der entsprechenden Kontrollen nicht wesentlich abwich. In Serie III, in der der Pilz nicht unmittelbar von der Spermatosphäre aus angreifen konnte, vermochte er die Pflanzen nicht zu schädigen. Zusammen mit dem Ergebnis in der Serie IV läßt dieses ferner darauf schließen, daß Weizenkeimlinge gegen den untersuchten Stamm von *Fusarium culmorum* mit zunehmendem Alter widerstandsfähiger werden. Hierfür spricht auch die Tatsache, daß die Schädigung aller Pflanzen im Vergleich zur Kontrolle stets in den ersten Tagen nach Versuchsbeginn am stärksten war.

Sämtliche geschädigten Pflanzen in beiden Versuchen wiesen wiederum keine spezifischen Krankheitssymptome auf. Pilzmyzel konnte auch hier mikroskopisch in keinem Falle nachgewiesen werden.

4. Beeinflussung von *Fusarium culmorum* durch anfällige und nicht anfällige Pflanzen

Die aus den Ergebnissen der vorhergehenden Versuche abgeleiteten Vermutungen, daß 1. die Erbse selbst besonders in der zweiten Hälfte ihrer Entwicklung die Bodenbeschaffenheit in einer für ihre eigene Art ungünstigen Weise verändert, und daß 2. auch nicht anfällige Pflanzen bestimmte Wirkungen auf bodenbewohnende Krankheitserreger der Erbse ausüben, erschienen einer kritischen Nachprüfung an Hand umfangreicheren Vergleichsmaterials wert. Bei der Durchführung des diesem Zwecke dienenden Versuches wurden auch methodisch alle bisher gewonnenen Erkenntnisse verwertet.

Der Versuch wurde in zwei parallelen Abteilungen einmal in lehmigem Sand, einmal in Ackererde (Vorfrucht Kartoffeln) angelegt. Zur Infektion wurde *Fusarium culmorum* verwendet, das die Erbse stärker schädigte als *Ascochyta pinodella*. Es war zu erwarten, daß auftretende Unterschiede im

Ausmaß der Schädigung sich deshalb deutlicher bemerkbar machen würden, was im Interesse einer zahlenmäßigen Erfassung der Ergebnisse wünschenswert erschien. Die Samen wurden auf Grund der Erfahrungen aus dem vorhergehenden Versuch B 3 erst 3 Tage nach dem Einquellen ausgelegt, um in den infizierten Reihen das Wachstum des ersten Pflanzenbestandes nicht zu stark zu hemmen. Andernfalls wäre eine Weiterverarbeitung des Materials nach der im Versuch A 3 angewandten Methode nicht möglich gewesen. Alle weiteren Daten sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Wie daraus ersichtlich ist, war die Größe der pilzdurchwachsenen Agarscheiben so bemessen,

Tabelle 2

Einzelheiten der Versuchsdurchführung in den infizierten Reihen des Versuches B 4

	Pflanze						Kontrolle
	Saaterbse	Felderbse	Wicke	Mais	Weizen	Raps	
Anzahl der Töpfe	8	8	8	8	8	8	16
Anzahl der Samen je Topf .	20	20	25	20	25	40	—
Anzahl der Pilzscheiben je Topf	20	20	25	20	25	20	20
Durchmesser der einzelnen Pilzscheibe . . . mm	9	9	8	9	8	9	9
Fläche ($r^2\pi$) der einzelnen Pilzscheibe . . . mm^2	63,585	63,585	50,24	63,585	50,24	63,585	63,585
Gesamtfläche aller Pilzscheiben je Topf . cm^2	12,72	12,72	12,56	12,72	12,56	12.72	12,72
Anzahl ausgelegter Samen je Reihe	160	160	200	160	200	320	—

daß in allen infizierten Reihen die gleiche Menge Infektionsmaterial in jeden Topf eingebracht wurde. Die gleiche Anzahl auf dieselbe Weise vorbehandelter Samen wurde nicht infiziert ausgelegt. Außerdem wurden als Kontrolle je 32 Töpfe in jeder Abteilung aufgestellt, die unbesät blieben; von diesen wurden je 16 mit der gleichen Menge Infektionsmaterial beschickt wie die besäten Töpfe. Der ganze Versuch wurde am 26. Januar in einem beheizten Gewächshaus angelegt. Von Mitte Februar bis Anfang März wurden alle Töpfe der beiden Rapsserien ins Freie umgestellt, um einen Kältereiz auf sie einwirken zu lassen, da die verwendete Sorte eine Winterform ist. Die Pflanzen waren während dieser Periode mehreren Frösten ausgesetzt.

Auf Tabelle 3 sind in der Anzahl der kranken Pflanzen wiederum die nicht aufgelaufenen einbegriffen. Ein Vergleich von Spalte 3 mit Spalte 10 bzw. der Spalten 4 und 6 mit den entsprechenden Spalten 11 und 13 zeigt zunächst, daß die schädigende Wirkung von *Fusarium culmorum* im Sand bei allen Pflanzen stärker in Erscheinung trat außer bei der Saaterbse, die in beiden Böden gleich stark befallen war. Das Verhalten von Mais und Weizen bestätigt und ergänzt die an die beiden vorhergehenden Versuche B 2 und B 3 geknüpften Vermutungen. Offenbar haben die sich in der Spermatosphäre abspielenden Vorgänge nur für die allererste Jugendentwicklung von Keimpflanzen entscheidende Bedeutung. Dieses dürfte auch der Grund dafür sein, daß eine Wachstumsbegünstigung der infizierten Maispflanzen wie

Tabelle 3

Reaktion von 6 Pflanzenarten auf Infektion mit *Fusarium culmorum* in verschiedenen Böden, ermittelt auf Grund der 25 Tage nach der Aussaat festgestellten Anzahl kranker und gesunder Pflanzen

Pflanzenart	Bodenart: Ackererde							Sand						
	Anzahl gesunde Pflanzen			Anzahl kranke Pflanzen				Anzahl gesunde Pflanzen			Anzahl kranke Pflanzen			
	in der			in der		in % der Anzahl ausgelegter Samen		in der			in der		in % der Anzahl ausgelegter Samen	
	infizierten Reihe	nicht infiz. Reihe	in der infiz. Reihe im Verhältnis zur nicht infiz. = 100	infizierten Reihe	nicht infiz. Reihe	in der infiz. Reihe	in der nicht infiz. Reihe	infizierten Reihe	nicht infiz. Reihe	in der infiz. Reihe im Verhältnis zur nicht infiz. = 100	infizierten Reihe	nicht infiz. Reihe	in der infiz. Reihe	in der nicht infiz. Reihe
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Saaterbse .	97	156	62,2	63	4	39,4	2,5	98	158	62,0	62	2	38,8	1,3
Felderbse .	144	152	94,7	16	8	10,0	5,0	122	152	80.3	38	8	23,8	5,0
Wicke . .	142	194	73,2	58	6	29,0	3,0	89	190	46,8	111	10	55,5	5,0
Mais . .	145	144	100,7	15	16	9,4	10,0	138	150	92,0	22	10	13,8	6,3
Weizen .	179	179	100	21	21	11,5	11,5	173	190	91,1	27	10	13,5	5,0
Raps . .	292	319	91,5	28	1	8,8	0,3	276	270	102,2	44	50	13,8	15,6

im Versuch B 2 hier nicht zu beobachten war. Ferner unterstützt das vorliegende Ergebnis die Ansicht, daß Mais, Weizen und Raps gegen den untersuchten Stamm von *Fusarium culmorum* weitgehend resistent sind.

75 Tage nach Versuchsbeginn wurde allen Töpfen eine Stickstoffgabe in Form von $NaNO_3$ verabreicht, die einer Menge von 50 kg Reinstickstoff je Hektar entsprochen hätte.

Nach 143 Tagen wurde mit allen Töpfen des Versuches auf die S. 63 bis 64 beschriebene Weise verfahren. Der aus den 8 Töpfen jeder Reihe durchgesiebte Boden wurde in 6 Töpfe wieder eingefüllt, die mit je 25 lufttrockenen Saaterbsensamen besät wurden. Die Ergebnisse beziehen sich also auf je $6 \times 25 = 150$ bzw. in der unbewachsenen Kontrolle auf je $12 \times 25 = 300$ ausgelegte Samen.

Die abgesiebte Wurzelmasse jeder Reihe wurde in Anlehnung an die für Serie II des Versuches A 3 beschriebene Methode mit Quarzsand vermischt, worauf ebenfalls je 25 Erbsensamen ausgelegt wurden. Aus der Entwicklung dieser Pflanzen ließen sich eindeutige Schlüsse nicht ziehen. Wegen des für den Rahmen dieses Versuches zu geringen Vergleichsmaterials wurden diese Töpfe bei der Erfassung der Ergebnisse auf Tabelle 4 unberücksichtigt gelassen.

Ein Vergleich mit Tabelle 3 zeigt zunächst generell, daß die Entwicklung der nachgebauten Erbsen zur Schädigung der Vorfrucht durch *Fusarium culmorum* in keinerlei Beziehung stand. Bei beiden Bodenarten kommt wiederum zum Ausdruck, daß die Erbse selbst die Bodenbeschaffenheit in einer für ihre eigene Art ungünstigen Weise beeinflußt, wobei auch hier wieder die spezifische Anreicherung des untersuchten Parasiten weniger bedeutungsvoll war. Mais wirkte als Vorfrucht nicht so eindeutig ungünstig auf nachgebaute Erbsen wie im Versuch A 3.

Tabelle 4

Wachstum von Erbsen nach verschiedenen mit *Fusarium culmorum* infizierten und nicht infizierten Vorfrüchten

Vorfrucht	Bodenart: Ackererde				Bodenart: Sand			
	Summe der Höhe aller Pflanzen je Topf in cm		in % der Kontrolle		Summe der Höhe aller Pflanzen je Topf in cm		in % der Kontrolle	
	in der infizierten Reihe	in der nicht infiz. Reihe	in der infizierten Reihe	in der nicht infiz. Reihe	in der infizierten Reihe	in der nicht infiz. Reihe	in der infizierten Reihe	in der nicht infiz. Reihe
	1	2	3	4	5	6	7	8
Saaterbse . . .	228	279	71,6	84,3	171	175	42,9	49.8
Felderbse . . .	203	232	63,7	70,0	200	239	50,3	68,3
Wicke	312	234	98,1	70,7	321	298	80,7	84,9
Mais	338	302	106,2	91,4	296	313	74,5	89,2
Weizen	328	251	103.1	75,8	271	243	68,1	69,2
Raps	315	336	99,0	101,6	177	226	44,6	64,6
—	318	331	100	100	397	350	100	100

Im Sand war in allen bewachsenen Reihen mit Ausnahme der Weizenserie in wechselndem Ausmaß eine Wirkung von *Fusarium culmorum* bemerkbar, und zwar am deutlichsten nach Raps, dann nach Felderbse und Mais.

Weniger übersichtlich lagen die Verhältnisse in der Ackererde. Der Raps beeinflußte hier als Vorfrucht das Wachstum der Erbse kaum. Ferner erscheint bemerkenswert, daß in der Wicken-, Mais- und Weizenserie, und zwar nach Wicke und Weizen in sehr beträchtlichem Ausmaß, die Entwicklung der nachgebauten Erbsen in den infizierten Reihen besser war als in den nicht infizierten; im Sand war dieses nicht der Fall.

Die teilweise unerwarteten Ergebnisse dieses Versuches weisen erneut darauf hin, daß eine Vielzahl verschiedener Einflüsse die günstige oder ungünstige Vorfruchtwirkung bestimmter Pflanzen auf andere bedingt. Mit Hilfe der in diesem ersten Arbeitsabschnitt angewandten methodischen Mittel war es nicht möglich, einzelne Faktorengruppen aus dem Gesamtkomplex der in diesem Zusammenhang im Boden ablaufenden Vorgänge herauszulösen.

II. Untersuchung der für die Wurzelresistenz gegen *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* entscheidenden Faktoren

Beim Versuch, die Faktoren zu isolieren, die die Resistenz von Wurzeln gegen Pilzkrankheiten bedingen, ergab sich die Notwendigkeit, mit sterilen Kulturen höherer Pflanzen zu arbeiten. Zunächst wurden probeweise verschiedene Bodenarten in sterilem Zustand als Substrat verwendet. In geschlossenen Schraubgläsern wurden Komposterde und Sand durch 2stündiges Erhitzen im Autoklaven bei 1,5 atü an 3 aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert und mit steril gekeimten Erbsensamen (siehe unten) unter sterilen Kautelen belegt. Eine 20 Tage nach Versuchsbeginn durchgeführte Untersuchung ergab, daß die in den sterilisierten Böden gewachsenen Wurzeln in eigenartiger Weise deformiert waren. Offenbar wurden in beiden Böden durch das wiederholte Erhitzen so tiefgreifende Veränderungen ausgelöst, daß ein normales Pflanzenwachstum in ihnen nicht mehr möglich war.

Daraufhin wurde versuchsweise Knopsche Nährlösung (siehe unten) mit einem Zusatz von 1% Agar als Substrat benutzt. Als Kontrolle wurden Pflanzen unter sonst gleichen Bedingungen in unvorbehandelter Komposterde und Gartenerde und in unvorbehandeltem Sand gezogen. Die im Agar wachsenden Pflanzen entwickelten sich genau so gleichmäßig und kräftig wie die Kontrollpflanzen und bildeten auch normale Wurzelhaare aus. Der Verwendung von Agar als Substrat für höhere Pflanzen stehen also von dieser Seite her keine Bedenken entgegen. Agar wurde auch von anderen Autoren schon in der gleichen Weise verwandt (Linford 1931b; Steinberg 1947a, b).

In den anschließend beschriebenen Versuchen werden teils Knopsche Nährlösung (je 1000 cm^3 Wasser: 1 g $Ca(NO_3)_2$; 0,25 g KCl; 0,25 g $MgSO_4$; 0,25 g KH_2PO_4), teils Zinzadze-Nährlösung für pH 6,9—7,3 (je 1000 cm^3 Wasser: 1 g KNO_3; 0,5 g $MgSO_4$; 0,2 g $Fe_2(SO_4)_3$; 0,5 g $KHCO_3$; 0,7 g $Ca_3(PO_4)_2$) mit einem Zusatz von 1% Agar verwendet. Als Kulturgefäße dienten mit einem Zellstoffpfropf verschlossene, 17—18 mm weite Reagenzgläser, die mit je 10 cm^3 Nährlösung beschickt wurden. Nach halbstündiger Sterilisation im Autoklaven bei 0,75 atü wurden die Gläser zum Erstarren schräg gestellt.

Zur Infektion wurden mit dem Korkbohrer ausgestanzte, kreisrunde pilzdurchwachsene Agarscheiben mit einer Impfnadel aus einer Petrischale aufgenommen, nachdem sie vorher durch einen Stich mit demselben Gerät in der Mitte mit einem kleinen Loch versehen worden waren, und vorsichtig in die schräg gehaltenen Reagenzgläser auf die Mitte der schräg erstarrten Agaroberfläche aufgelegt.

Die Samen wurden in 15prozent. Alkohol mit einem Zusatz von 0,1% $HgCl_2$ 15 Minuten oberflächensterilisiert. Bei einem Vergleich der Wirksamkeit von Sublimatlösungen mit und ohne Alkoholzusatz erwies sich dieser als entbehrlich und wurde deshalb in späteren Versuchen weggelassen. Nach der Beizung wurden die Samen in sterilem destilliertem Wasser mehrmals ausgespült und in der letzten Portion desselben 24 Stunden eingequollen. Nach vorsichtigem Abgießen des Wassers wurden die Samen anschließend in Petrischalen auf Filtrierpapier mehrere Stunden getrocknet und darauf einzeln auf Agar (3prozent. Rübensirupagar) in Petrischalen ausgelegt. Nach weiteren 48 Stunden wurden von diesen Platten die steril gebliebenen Samen zur Aussaat in die vorbereiteten Reagenzgläser ausgewählt. Jeder Samen wurde mit einer Öse von der Agarplatte aufgenommen und in das waagerecht gehaltene Reagenzglas vorsichtig eingeführt in der Weise, daß die Wurzel in die Mitte der schräg erstarrten Agaroberfläche eingebohrt wurde, was in den infizierten Reihen durch das kleine Loch in der Pilzscheibe hindurch geschah. Auf diese Art konnte immer eine sehr gleichmäßige Infektion erzielt werden.

Alle Manipulationen wurden stets nur im zugfreien Labor über einer mit 1prozent. Formalinlösung ständig feucht gehaltenen Tischplatte und mit ständig abgeflammten Geräten durchgeführt. Durch größte Sorgfalt insbesondere auch beim Öffnen und Schließen der verschiedenen Gefäße während aller Arbeitsgänge konnten Fremdinfektionen im Durchschnitt aller Versuche auf 3% herabgedrückt werden. Der größte Teil dieser Verunreinigungen wurde durch Pilze der Gattung *Penicillium* verursacht.

Ferner stellte sich nach einiger Zeit heraus, daß die Pathogenität von *Fusarium culmorum* mit zunehmender Zeitdauer seiner Kultur auf künstlichem Nährboden abnahm. Die Anzahl der Übertragungen auf frische Platten spielte dabei keine Rolle. Die anfängliche Virulenz ließ sich durch Pflanzenpassagen wieder herstellen. Es sind daher bei *Fusarium culmorum* stets nur die verschiedenen Reihen eines Versuches, nicht aber die verschiedenen Versuche untereinander vergleichbar. Daraus erklärt sich beispielsweise auch die verschieden starke Schädigung von Mais und Weizen auf Abb. 1 im Vergleich zu Abb. 2c und d. Bei *Ascochyta pinodella* dagegen zeigte sich keine solche Verminderung des parasitischen Potentials. Nach Pflanzenpassagen rief der Pilz an Erbsen unter sterilen und nicht sterilen Bedingungen keine stärkeren Schädigungen hervor, als wenn er ununterbrochen auf künstlichem Substrat gezogen worden war.

Im ganzen wurden im Verlauf der anschließend beschriebenen Versuche 2245 Pflanzen steril gezogen. Alle Pflanzen in allen Versuchen wurden nicht nur im Hinblick auf die speziellen Zielsetzungen jeder Einzelserie geprüft, sondern daneben wurde versucht, Beweise für die Richtigkeit der von Schanderl (1947) aufgestellten Theorien zu finden. Es sei an dieser Stelle bemerkt, daß keine der von Schanderl beschriebenen Erscheinungen beobachtet werden konnten, obgleich verschiedenartigste Nährböden benutzt wurden. Beispielsweise dürfte eine Knop-Lösung mit Zusatz von 1,5% Pepton, 1% Rohrzucker und 1% Agar mit einem pH von 7,0—7,5 den von Schanderl[1]) für die „Bakterienregeneration" als optimal bezeichneten Bedingungen zumindestens angenähert gewesen sein. Bis auf diejenigen Kulturen, die durch in der Laboratoriumsluft enthaltene Keime von außen her verunreinigt waren, blieben alle Pflanzen steril, auch wenn sie über den gewöhnlich auf 3—4 Wochen ausgedehnten Beobachtungszeitraum hinaus kultiviert wurden. An den Leguminosen trat in keinem Falle Knöllchenbildung auf.

Nach der S. 73 beschriebenen Methode wurden Saaterbsen, Mais und Weizen unter sterilen Bedingungen in einer Knop-Lösung mit Zusatz von 1% Agar mit *Ascochyta pinodella* infiziert. Dabei zeigte sich, daß die unter natürlichen Bedingungen beobachtete Reaktionsnorm, nämlich die völlige Resistenz der beiden Gramineenarten gegen *Ascochyta pinodella* (Versuch A 3) und von Mais gegen *Fusarium culmorum* (Versuche B 1, 2 und 4) sowie die weitgehende Widerstandsfähigkeit von Weizen gegen *Fusarium culmorum* (Versuche B 1—4) durch Ausschaltung der Rhizosphärenmikroflora weitgehend verschoben wird. Die an Mais und Weizen durch *Fusarium culmorum* hervorgerufenen schweren Krankheitssymptome sind auf Abb. 1 klar zu erkennen. Auf Wurzellängs- und -querschnitten ließ sich auch hier weder bei Mais noch bei Weizen Pilzmyzel in den Zellen der angegriffenen Organe nachweisen. Auch durch *Ascochyta pinodella* zeigte sich der Weizen deutlich geschädigt. Die Wurzeln waren besonders in ihren oberen Abschnitten von einem regelrechten dunklen Mantel von Hyphen umhüllt, und ihre Rindenschichten waren

[1]) Mündliche Äußerung von Herrn Prof. Dr. Schanderl im Anschluß an einen vor dem Fachkreis deutscher Landwirtschaftsstudenten, Arbeitsgemeinschaft Bonn, in Bonn am 27. Januar 1949 von ihm gehaltenen Vortrag.

von *Ascochyta pinodella*-Myzel besiedelt. Die Seitenwurzelbildung war gehemmt. An weiter von der Halmbasis entfernten Wurzelabschnitten ließ sich die zunehmende Auflockerung des Hyphenmantels erkennen. Hier waren nicht mehr zusammenhängende Zellschichten, sondern nur noch einzelne Zellen mit Pilzmyzel vollgestopft. Äußerlich sichtbar war die Entwicklung von Mais durch *Ascochyta pinodella* nicht gehemmt. Auf Wurzellängs- und -querschnitten ließ sich jedoch mikroskopisch deutlich nachweisen, daß auch hier der Pilz in die Wurzel eingedrungen war. An den Erbsen waren die durch *Ascochyta pinodella* hervorgerufenen Krankheitssymptome viel schwerer als an Mais und Weizen, doch zeigten sich die Pflanzen nicht wesentlich stärker geschädigt als bei Infektion mit *Ascochyta pinodella* im Boden unter nicht sterilen Bedingungen. Die Ausschaltung der Rhizosphärenmikroflora hatte hier also eine viel geringere Bedeutung.

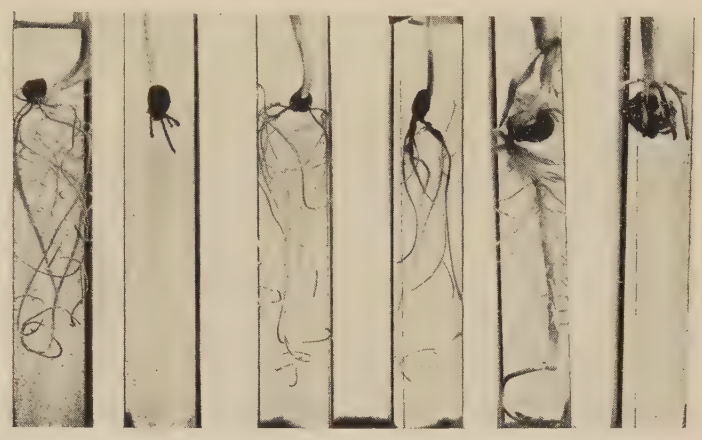


Abb. 1
Infektion von Weizen und Mais durch *Ascochyta pinodella* bzw. *Fusarium culmorum* unter sterilen Bedingungen; von links: Nr. 1 bis 4 Weizen, Nr. 5 und 6 Mais; Nr. 1, 3 und 5 sind nicht infizierte Kontrollpflanzen; Nr. 2 und 6 sind mit *Fusarium culmorum*, Nr. 4 ist mit *Ascochyta pinodella* infiziert. Der anhaftende Agar wurde vorsichtig ausgespült und die Pflanzen in 20 mm weiten Reagenzgläsern in abgekochtem Wasser fotografiert

Dieser Versuch wurde seiner Wichtigkeit wegen fünfmal nacheinander nach derselben Methode wiederholt, wobei jedesmal das gleiche Ergebnis erzielt wurde, das demnach nicht durch Zufall oder unkontrollierte Besonderheiten einer Versuchsanordnung bedingt gewesen sein kann, sondern als absolut gesichert angesehen werden darf. Damit wurde eindeutig experimentell bewiesen, daß die Rhizosphärenmikroflora auf die Resistenz von Wurzeln gegen *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* erheblichen Einfluß hat. Nach Beseitigung dieses Faktors war jedoch immer noch ein deutlicher, wenngleich gegenüber natürlichen Bedingungen abgeschwächter Unterschied im Ausmaß der Schädigung von Erbsen, Mais und Weizen feststellbar. Daraus ließ sich folgern, daß neben der Rhizosphärenmikroflora in der Wurzel selbst liegende Eigenschaften die Resistenz beeinflussen. Die Richtigkeit dieser Vermutung wurde durch einen später ebenfalls unter sterilen Bedingungen durchgeführten Infektionsversuch (S. 84) bestätigt.

Um nochmals sicherzustellen, daß die vorliegenden Resultate nicht dadurch beeinflußt oder bestimmt waren, daß die Pflanzen in den verwandten Reagenzgläsern gezogen wurden, wurde ein Kontrollversuch angelegt. Neben

Mais und Weizen wurde Raps, der unter natürlichen Bedingungen gegen *Ascochyta pinodella* ebenfalls absolut resistent ist, in den gleichen Reagenzgläsern mit *Ascochyta pinodella* infiziert. Als Substrate wurden verwendet: 1. sterile Knop-Lösung mit einem Zusatz von 1% Agar; 2. nicht sterilisierter Quarzsand, angefeuchtet mit a) Zinzadze-Nährlösung, b) 3 prozent. Rübensirup-Lösung; 3. nicht sterilisierte Komposterde, angefeuchtet mit Wasser. In der Agar-Reihe war genau wie in den vorher beschriebenen Versuchen die Resistenz der Pflanzen weitgehend aufgehoben, während in allen anderen, nicht sterilen Substraten eine Rhizosphärenmikroflora offensichtlich genau so wie im freien Boden ihre Wirksamkeit entfaltete. Ihre Entwicklung wird also durch die Kultur der Pflanzen in Reagenzgläsern nicht entscheidend beeinträchtigt.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß bei den untersuchten Pflanzen die Resistenz der Wurzeln gegen *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* von zwei verschiedenen, voneinander isolierbaren Komponenten entscheidend bestimmt wird. Es darf angenommen werden, daß die hier beobachteten Verhältnisse keinen Sonderfall darstellen, daß vielmehr allgemein das Zusammenwirken von Rhizosphärenmikroflora und in der Wurzel selbst liegenden infektionshemmenden Eigenschaften die Resistenz von Wurzeln gegen vom Boden her angreifende Krankheitserreger zumindestens sehr weitgehend bedingt.

Die Frage, ob die Zusammensetzung der Rhizosphärenmikroflora artspezifisch ist, wie dies von Isakowa und Smirnowa (1937) angenommen wurde, wurde nicht eingehender geprüft. Eigene Beobachtungen in Verbindung mit den Feststellungen von Stille (1938) lassen jedoch darauf schließen, daß die Schutzwirkung der Rhizosphäre nicht an einen ganz bestimmten qualitativen oder quantitativen Aufbau der sie besiedelnden Mikroflora gebunden ist. Stille gelang es, bei künstlicher Synthese der Rhizosphäre von Senf mit Reinkulturen beliebig ausgewählter Mikroorganismen in jedem Falle eine Übervermehrung innerhalb der wurzelnahen Zone und normale Rhizosphärenbilder zu erzeugen. Im Infektionsversuch A 3 (S. 63) genügte die Reinfektion durch in der Luft enthaltene Keime dazu, Mais und Weizen vor dem Angriff von *Ascochyta pinodella* zu schützen. Genau so war in dem zuletzt beschriebenen Kontrollversuch, in dem unter anderem annähernd steriler Quarzsand verwendet wurde, der darin enthaltene Mikroorganismenbestand in der Lage, die natürliche Resistenz von Mais, Weizen und Raps zu gewährleisten. Auch in den Versuchen von Müller-Kögler (1938) stellte die Reinfektion sterilen Bodens von der Luft her die Resistenz vieler dikotyler Pflanzen gegen *Ophiobolus graminis* wieder her.

III. Untersuchung der Wirkungsweise von *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum*

Die Frage nach der Wirkungsweise der beiden hier untersuchten pathogenen Organismen ist bisher noch offen geblieben. Es wurde bereits mehrfach festgestellt, daß bei den mit *Fusarium culmorum* infizierten Pflanzen niemals Myzel in den Geweben der vom Pilz angegriffenen Organe nachweisbar war. Nach den bereits einleitend zitierten Befunden mehrerer Autoren, daß bei der

Schädigung verschiedener Pflanzen durch Pilze der Gattung *Fusarium* die Wirkung von Toxinen von Bedeutung ist, lag es nahe, das Gleiche auch hier zu vermuten.

1. Reaktion von Erbsen auf Kulturfiltrate von *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum*

In Anlehnung an die von Waksman (1927) beschriebene Methode wurde ein Erbsenkeimlingsextrakt hergestellt, von dem 5% zu einer Knop-Lösung mit einem Zusatz von 1% Rohrzucker hinzugegeben wurden. Je 60 cm³ dieser flüssigen Nährlösung wurden in 4 100 cm³-Erlenmeyerkolben sterilisiert. Davon wurden zwei Kolben mit *Ascochyta pinodella*, zwei mit *Fusarium culmorum* beimpft und bei 25°C im Brutschrank aufbewahrt. Nach 17 Tagen wurden von diesen Kulturen sterile Filtrate gewonnen.

Saaterbsen-Pflanzen wurden in Quarzsand angezogen und im Alter von 14 bzw. 10 Tagen teils mit, teils ohne Wurzeln in Reagenzgläsern in diese Filtrate hineingestellt. Dabei wurden je Reagenzglas vom *Ascochyta*-Filtrat 13 cm³, vom *Fusarium*-Filtrat 8 cm³ verwendet, die jeweils mit Knop-Lösung auf ein Gesamtvolumen von 20 cm³ aufgefüllt wurden. Die Kontrollpflanzen standen in reiner Knop-Lösung. In einem Vorversuch war ermittelt worden, daß so geringe Zuckerkonzentrationen, wie sie den Versuchspflanzen dargeboten wurden (in der *Ascochyta*-Reihe 0,65%, in der *Fusarium*-Reihe 0,4% maximal

Tabelle 5

Reaktion von Erbsen auf Kulturfiltrate von

a) *Ascochyta pinodella*

Beobachtete Merkmale	Stunden nach Versuchsbeginn																			
	0		28			114			144			196			265			265		
	Stengellänge	Aussehen	Zuwachs		Aussehen	Zuwachs		Aussehen	Zuwachs		Aussehen	Zuwachs		Aussehen	Zuwachs		Aussehen	Flüssigkeitsaufnahme		
	cm		cm	%		cm	%		cm	%		cm	%		cm	%		cm³		
Flüssigkeitsaufn. durch d. Stengel:																				
Versuch . .	18	frisch	0.5	2,8	frisch	1	5,6	frisch	1,5	8,3	frisch	2	11,1	Blätter rollen	3	16,7	Blätter welk	4,5		
Kontrolle .	21	frisch	0,5	2,4	frisch	3	14,3	frisch	4	19,0	frisch	5	23,8	frisch	5,5	26,2	frisch	4,75		

b) *Fusarium culmorum*

Beobachtete Merkmale	Stunden nach Versuchsbeginn									
	0		49		74		120		120	
	Stengellänge cm	Aussehen	Zuwachs cm	Aussehen	Zuwachs cm	Aussehen	Zuwachs cm	Aussehen	Flüssigk.-Aufnahme cm³	
Flüssigkeitsaufnahme durch den Stengel:										
Versuch	9	frisch	0	matt	0	welk	0	kollab.	1,4	
Kontrolle	7	frisch	4,5	frisch	7	frisch	9	frisch	1,5	
durch die Wurzel:										
Versuch	10,5	frisch	0	welk	0	kollab.	0	—	0,7	
Kontrolle	9	frisch	1,5	frisch	2	frisch	2,5	frisch	0,9	

auf den Gesamtinhalt eines Reagenzglases von 20 cm^3 bezogen), im Vergleich zu einer reinen Knop-Lösung das Versuchsergebnis nicht beeinflussen. Die in der *Ascochyta*-Serie verwendeten Pflanzen waren 14, die in der *Fusarium*-Serie dagegen erst 10 Tage alt.

Die einzelnen Pflanzen in jeder Reihe reagierten so ähnlich, daß in Tabelle 5 lediglich die Beobachtungen an je einem Exemplar wiedergegeben sind, zumal der vorliegende Versuch nur dem Abtasten der Möglichkeiten für die zunächst einzuschlagende Arbeitsrichtung galt. Die Tatsache, daß die abgeschnittenen Stengel in der Kontrolle der *Fusarium culmorum*-Serie in einem kürzeren Zeitraum wesentlich rascher wuchsen als die Kontrollen der *Ascochyta pinodella*-Serie, ist auf das unterschiedliche Alter der Erbsenpflanzen in den beiden Serien zurückzuführen.

Das Versuchsergebnis deutet darauf hin, daß das Kulturfiltrat von *Fusarium culmorum* stark toxische Eigenschaften besitzt, was bei demjenigen von *Ascochyta pinodella* nur in sehr viel geringerem Ausmaß, wenn überhaupt, der Fall zu sein scheint. Bemerkenswert ist, daß die Versuchs- und Kontrollpflanzen jeweils annähernd das gleiche Flüssigkeitsvolumen aufnahmen. Daraus ließ sich ersehen, daß die Wasserleitungsbahnen primär durch die Toxine nicht geschädigt wurden. Die Welke muß also wohl durch übermäßigen Wasserverlust durch die Blätter eingetreten sein. Diese Annahme deckt sich mit den schon zitierten Befunden von Linford (1931 a) und Gottlieb (1944).

2. Infektionsversuch an Erbsen, Wicken, Mais und Weizen

Nach der S. 73 beschriebenen Methode wurden Saaterbsen, Wicken, Mais und Weizen unter sterilen Bedingungen mit *Fusarium culmorum* in Form von pilzdurchwachsenen Agarscheiben von vier verschiedenen Durchmessern (4,5, 8, 10,5 und 13 mm) infiziert. Knopsche Nährlösung mit einem Zusatz von 1% Agar diente als Substrat. Der Versuch wurde mit drei gleichzeitigen Wiederholungen angelegt und durchgeführt.

Um das Ergebnis solcher Versuche zahlenmäßig erfassen zu können, wurde ein Bewertungsschema ausgearbeitet, das sich in der Folge als brauchbar erwiesen hat. Hauptwurzeln, Seitenwurzeln und Sproß wurden je nach ihrer Ausbildung mit Ziffern von 1—5 bewertet, wobei als Bezugswert für 1 normal und kräftig entwickelte Organe einer entsprechenden gesunden Kontrollpflanze herangezogen wurden. Ferner wurde der Grad der Bräunung der Wurzel mitberücksichtigt und von 0—3 bewertet; 3 wurde für gänzlich, 1.5 für zur Hälfte gebräunte Wurzeln angesetzt. Eine gesunde Pflanze erhält so nach Addition der einzelnen Ziffern den Endwert 3.

Ein großer Vorteil dieses Bewertungsschemas liegt darin, daß es mit seiner Hilfe möglich ist, nicht nur die Schädigung verschieden behandelter Pflanzen derselben Art festzuhalten, sondern auch die Reaktionen verschiedener Pflanzenarten untereinander zu vergleichen. In einem Vorversuch, der der Entwicklung und Vervollkommnung der Methode galt, wurde eine Anzahl verschieden stark geschädigter Pflanzen in Abständen von 2 Tagen nach diesem Schema beurteilt. Dabei zeigte sich, daß 15—16 Tage nach Versuchsbeginn bereits eine zuverlässige Erfassung des Versuchsergebnisses möglich ist. Die

Abb. 2. Reaktion von 17 Tage alten Saaterbsen- (a), Wicken- (b), Mais- (c) und Weizenpflanzen (d) auf Infektion mit *Fusarium culmorum* in Form von pilzdurchwachsenen Agarscheiben, deren Durchmesser jeweils von links nach rechts zunimmt; ganz rechts je eine nicht infizierte Kontrollpflanze. Der Versuch wurde unter sterilen Bedingungen durchgeführt

Tabelle 6

Beurteilung der Reaktion von 4 Pflanzenarten auf Infektion mit *Fusarium culmorum* in Form pilzdurchwachsener Agarscheiben verschiedenen Durchmessers

Beobachtete Kennzeichen	Pflanzenart	Größe der Pilzscheibe cm²				Kontrolle	Pflanzenart	Größe der Pilzscheibe cm²				Kontrolle
		0,159	0,502	0,865	1,326			0.159	0,502	0,865	1,326	
Hauptwurzeln	Erbse	3	3	4,5	4,5	1	Wicke	3	4,5	4,75	4.75	1
Seitenwurzeln		2,75	3,25	5	5	1		2,75	4,5	4,75	5	1
Sproß . . .		2	2,5	4,5	4,5	1		2	4	4	4,5	1
Bräunung . .		0.75	1,5	2	2	0		0.25	1	2	2	0
Endwert . .		8,5	10,25	16	16	3		8	14	15,5	16,25	3
Hauptwurzeln	Mais	2,5	2,5	2,5	2,75	1	Weizen	1,25	2,25	2,75	3,5	1
Seitenwurzeln		2,5	3,25	3,75	4,25	1		2	3	3,5	4	1
Sproß . . .		1	1	1	1,5	1		1,5	1,5	1,75	2,25	1
Bräunung . .		0,5	0,75	1	1	0		0	0	0	1	0
Endwert . .		6,5	7,5	8,25	9,5	3		4,75	6,75	8	10,75	3

zu diesem Zeitpunkt für die einzelnen beobachteten Kennzeichen ermittelten Ziffern und die daraus errechneten Endwerte wichen von den später gefundenen Werten nicht mehr ab.

Der vorliegende Versuch wurde 17 Tage nach dem Auslegen der Samen in die Reagenzgläser nach diesem Schema ausgewertet. Tabelle 6 gibt die im einzelnen gefundenen Ziffern und Endwerte wieder und erläutert in Verbindung mit Abb. 2a—d zugleich die eben beschriebene Methode. Die scheinbar starke Bräunung der infizierten Maiswurzeln auf Abb. 2c ist durch eine Schattenwirkung vorgetäuscht.

Durch die Art der Einbringung der keimenden Samen in die Reagenzgläser war gewährleistet, daß der Pilz in allen Fällen die gleiche Angriffsmöglichkeit auf den jungen Keimling hatte. Die trotzdem sehr unterschiedliche, deutlich in Beziehung zum Durchmesser der Agarscheiben stehende Reaktion der Pflanzen in den einzelnen Reihen ließ wiederum darauf schließen, daß die Schädigung in erster Linie nicht durch den aktiven Pilz selbst, sondern durch von ihm abgeschiedene Stoffwechselprodukte verursacht wird. Nach Einbringung der pilzdurchwachsenen Agarscheiben in die Reagenzgläser diffundierten von diesen Scheiben aus Stoffe in den Agar, auf dessen schräg erstarrte Oberfläche sie aufgelegt worden waren, was sich an der auftretenden Verfärbung des Substrates in der Umgebung der Pilzscheiben verfolgen ließ. Mit dem Durchmesser der pilzdurchwachsenen Agarscheiben nahm entsprechend auch die Konzentration pilzlicher Stoffwechselprodukte in dieser Region zu und damit auch die Toxinmenge, der die hineinwachsenden jungen Wurzeln unmittelbar ausgesetzt waren.

3. Reaktion verschiedener Pflanzenarten auf *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* in Form von: I. aktivem Pilzmyzel, II. sterilem Kulturfiltrat

Serie I: Nach der S. 73 beschriebenen Methode wurden Saaterbsen, Felderbsen, Wicken, Mais, Weizen und Raps mit *Ascochyta pinodella*- bzw. *Fusarium culmorum*-durchwachsenen Agarscheiben von 9 mm Durchmesser unter sterilen Bedingungen infiziert. In der *Fusarium culmorum*-Reihe diente reiner 1prozent. Knop-Agar als Substrat, während diesem in der *Ascochyta pinodella*-Reihe 1% Rohrzucker zugesetzt wurde.

Serie II: In 100 cm³ Erlenmeyerkolben wurden je 50 cm³ Knop-Lösung mit einem Zusatz von 1% Rohrzucker mit *Ascochyta pinodella* bzw. *Fusarium culmorum* beimpft und im Brutschrank bei 25° C inkubiert. Nach 23 Tagen wurden diese pilzbewachsenen Nährlösungen durch Filtrieren entkeimt, und die gewonnenen sterilen Filtrate wurden im Wasserbad langsam auf etwa 40° C erwärmt. Indessen wurden Reagenzgläser mit je 5 cm³ Knop-Lösung mit einem Zusatz von 2% Agar im Autoklaven sterilisiert und anschließend auf 60—70° C abgekühlt. Mit steriler Pipette wurden dann je 5 cm³ des Kulturfiltrates zu jeden 5 cm³ des 2prozent. Knop-Agars hinzugegeben und durch vorsichtiges Schütteln untermischt, so daß der Gesamtinhalt eines Reagenzglases 10 cm³ und die Agarkonzentration dementsprechend 1% betrug. Die Röhrchen wurden nach der S. 73 beschriebenen Methode mit steril gekeimten Samen belegt.

Die Kontrollpflanzen wuchsen in beiden Serien des vorliegenden Versuches in 1prozent. Knop-Agar mit den Zusätzen von Rohrzucker, die der entsprechenden infizierten Reihe entsprachen. Beide Serien wurden in je zwei gleichzeitigen Wiederholungen angelegt. Tabelle 7 zeigt die Reaktion der einzelnen Pflanzenarten in Form der Endwerte, die nach dem S. 78 beschriebenen Bewertungsschema 17 Tage nach Versuchsbeginn ermittelt wurden.

Tabelle 7

Schädigung verschiedener Pflanzen durch *Ascochyta pinodella* bzw. *Fusarium culmorum* in Form von aktivem Pilzmyzel bzw. sterilem Kulturfiltrat

Gesunde Kontrollpflanze = 3

	Pilz			
	Ascochyta pinodella		*Fusarium culmorum*	
	in Form von			
	aktivem Pilzmyzel	steriles Kulturfiltrat	aktivem Pilzmyzel	steriles Kulturfiltrat
	Serie I	Serie II	Serie I	Serie II
Saaterbse . . .	11,5	3	13,75	15
Felderbse . . .	11	3	14,75	15
Wicke	11	7,5	15,5	15,75
Mais	3,5	3	8,75	5,25
Weizen	8	3	9	8,5
Raps	9,75	Ang. fehlt	11,5	13,5

Ascochyta pinodella entfaltete als aktiver Pilz eine völlig andere Wirkung als das Filtrat der von ihm bewachsenen Nährlösung. Bei *Fusarium culmorum* hingegen ergibt sich in beiden Serien des Versuches die Reihenfolge Mais — Weizen — Raps — Saaterbse — Felderbse — Wicke, wenn man die einzelnen Pflanzenarten nach dem Ausmaß ihrer Schädigung ordnet. Die auf anderen Wegen erhaltenen Ergebnisse der beiden vorher beschriebenen Versuche III/1 und III/2 decken sich mit dem vorliegenden Befund, aus dem sich folgern läßt, daß die Schädigung von Pflanzen durch *Fusarium culmorum* in erster Linie durch die Wirkung toxischer Stoffwechselprodukte dieses Pilzes verursacht wird, die nur an die Wurzeloberfläche zu gelangen brauchen, während *Ascochyta pinodella* die Gewebe eines Wirtes aktiv besiedeln muß, um Krankheitssymptome hervorzurufen. Die Tatsache, daß in Wurzeln von Pflanzen, die durch *Fusarium culmorum* geschädigt waren, niemals Pilzmyzel mikroskopisch nachweisbar war, und die zitierten Hinweise in der Literatur bestätigen ebenfalls die Richtigkeit der an diese Reihe von Versuchen geknüpften Vermutungen.

IV. Wechselseitige Beziehungen zwischen anfälligen und nicht anfälligen Pflanzen und *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* unter sterilen Bedingungen

Die in Abschnitt I der vorliegenden Arbeit beschriebenen Infektionsversuche mit *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* vermochten nur in verhältnismäßig begrenztem Umfang Aufschluß zu geben über die Vorgänge, die sich beim Zusammenleben der untersuchten Organismen mit den Wurzeln höherer Pflanzen und beim Zustandekommen einer Infektion im Boden abspielen. Das Ausmaß der Schädigung der Wirtspflanze, das dabei als Indikator für die Wirkung verschiedenartigster Umwelteinflüsse dienen mußte, ist ja lediglich das Endprodukt eines komplizierten Zusammenwirkens

zahlreicher Faktoren, vermittelt jedoch keine Kenntnis von den einzelnen daran beteiligten Kräften.

Die methodischen und physiologischen Erkenntnisse, die in den Versuchen der Abschnitte II und III gewonnen wurden, eröffneten den Weg zu einer eingehenderen Analyse einzelner Probleme dieses Fragenkreises. Dabei wurde von einer bisher relativ wenig beachteten Arbeitsbasis ausgegangen; es wurde nämlich der Versuch unternommen, Teilvorgänge aus dem Gesamtkomplex des im natürlichen Boden stattfindenden Zusammenspieles unter möglichst weitgehend kontrollierten Bedingungen zu synthetisieren. Das Herauslösen einzelner Probleme aus ihrem organischen Zusammenhang bietet bei allen Nachteilen, die ein solches Vorgehen in sich birgt, doch eine Möglichkeit, die Grenzen hinauszuschieben, die der exakten Forschung durch die große Komplexheit der Verhältnisse im natürlichen Boden gesetzt sind. Deshalb wurde es für richtig erachtet, trotz der dem Verfahren anhaftenden Mängel den Weg der isolierten Bearbeitung einzelner Teilgebiete einzuschlagen, um dadurch einen tieferen Einblick in die Gesamtzusammenhänge zu gewinnen.

C. Schädigung verschiedener Pflanzen in Abhängigkeit von Ernährungsbedingungen

Es war zunächst wichtig, den Einfluß von Ernährungsbedingungen auf das Zustandekommen einer Schädigung bestimmter Pflanzen kennenzulernen. Die Untersuchung dieser Frage zerfällt in zwei Abschnitte. Es war zuerst zu prüfen, ob und in welchem Ausmaß die Krankheitssymptome und ihre Intensität durch verschiedene Nährstoffgaben verändert werden. Dazu ließ sich *Fusarium culmorum* nicht verwenden; bei Zugabe schon geringer Nährstoffmengen zu Knop- oder Zinzadze-Agar überwucherte der Pilz nach wenigen Tagen die jungen Keimpflanzen und erstickte sie, so daß erfaßbare Versuchsergebnisse nicht erzielt werden konnten. Im Anschluß an die Klärung dieses ersten Problems war nach Möglichkeit zu analysieren, ob solche Veränderungen durch Umstimmung der Widerstandsfähigkeit der Pflanze oder der Pathogenität des Parasiten verursacht werden. Es war also erforderlich, die zu prüfenden Nährstoffe auf Wirtspflanze und Parasit getrennt einwirken zu lassen. Hierzu erwies sich *Fusarium culmorum* als besonders geeignet, da ja feststand, daß dieser Pilz seine schädigende Wirkung in erster Linie durch Toxine ausübt (siehe oben). Dadurch war es möglich, verschiedene Nährstoffe — dem Versuchsziel entsprechend — an Wirt und Parasit getrennt zu verabreichen.

a) Versuche mit *Ascochyta pinodella* in Form von aktivem Pilzmyzel

1. Reaktion mit *Ascochyta pinodella* infizierter Pflanzen in verschiedenen Substraten

Wicken, Mais, Weizen und Raps wurden nach der S. 73 beschriebenen Methode mit *Ascochyta pinodella*-durchwachsenen Agarscheiben von 9 mm Durchmesser infiziert. Als Substrat dienten Zinzadze-Nährlösung bzw. ein Bodenauszug mit Zusätzen von 1% Agar und verschiedenen Zuckerarten in variierten Konzentrationen.

Zur Herstellung des Bodenauszuges wurden 250 cm³ Gartenerde und 300 cm³ destilliertes Wasser in Schüttelflaschen gefüllt, die an zwei aufeinanderfolgenden Tagen mehrfach geschüttelt und in der Zwischenzeit bei 22 °C im Brutschrank aufbewahrt wurden. Nachdem sich nach dem letzten Schütteln die schwereren Bestandteile gesetzt hatten, wurde die überstehende Flüssigkeit abgegossen und durch mehrfaches Filtrieren entkeimt. Der so gewonnene sterile Bodenauszug wurde auf 60 ° C erwärmt und jeweils 8 cm³ davon mit steriler Pipette zu 2 cm³ einer 5prozent. Agar-Lösung hinzugegeben, die nach der Sterilisation im Wasserbad flüssig gehalten wurde. Der Bodenextrakt wurde durch vorsichtiges Schütteln der Reagenzgläser untermischt, deren Gesamtinhalt also je 10 cm³ mit einem Agaranteil von 1 % betrug.

Nicht infizierte Kontrollpflanzen wurden jeweils auf den gleichen Nährböden gezogen. Sie zeigten sich in ihrer Entwicklung durch die verschiedenartigen Substrate nicht in einer Weise beeinflußt, die nach dem Bewertungsschema erfaßbar gewesen wäre, doch waren die Pflanzen, die die höchsten Zuckerkonzentrationen genossen, deutlich am kräftigsten.

Der Versuch wurde mit zwei gleichzeitigen Wiederholungen durchgeführt. In die Rohrzuckerserie in Zinzadze-Nährlösung wurden auch Saaterbsen und Felderbsen einbezogen, um einen Vergleich mit dem anschließend beschriebenen Versuch C 2 zu ermöglichen.

Tabelle 8

Schädigung verschiedener Pflanzen durch *Ascochyta pinodella* in Zinzadze-Nährlösung bzw. Bodenauszug bei Zugabe verschiedener Zuckerarten in variierten Konzentrationen

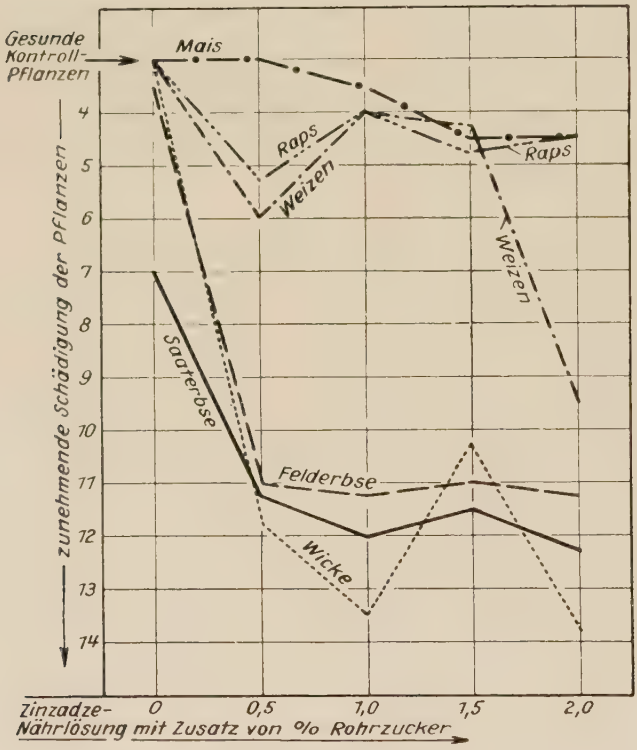
Gesunde Kontrollpflanze = 3

	Substrat: Zinzadze-Nährlösung				Substrat: Bodenauszug
	mit Zusatz von Glukose		mit Zusatz von Rohrzucker		mit Zusatz von Rohrzucker
	1 %	2 %	1 %	2 %	3 %
Saaterbse .	—	—	11,5	12	—
Felderbse .	—	—	11	11,5	—
Wicke. . .	13	15	11	13	9
Mais . . .	5,25	6,5	3,5	3,75	Ang. fehlt
Weizen . .	6,75	9	8	8	3,5
Raps . . .	9,5	9,5	10,25	6,25	5

Die 20 Tage nach Versuchsbeginn nach dem S. 78 beschriebenen Schema ermittelten Endwerte sowie die verwendeten Zuckerarten und -konzentrationen sind in Tabelle 8 zusammengefaßt. Daraus ist ersichtlich, daß Mais und Wicke stärker geschädigt waren, wenn statt Rohrzucker die gleiche Menge Glukose dem Substrat zugesetzt wurde, und ferner, daß bei den drei untersuchten Pflanzenarten die Schädigung merklich geringer war, wenn der Bodenauszug an Stelle von Zinzadze-Nährlösung als Grundlage des Substrates verwandt wurde. Aus dem Verhalten von Weizen und Raps ließen sich zunächst keine eindeutigen Schlüsse ziehen.

2. Reaktion mit *Ascochyta pinodella* infizierter Pflanzen bei verschiedenen Rohrzuckerkonzentrationen

Saaterbsen, Felderbsen, Wicken, Mais, Weizen und Raps wurden auf die gleiche Weise wie im letzten Versuch mit *Ascochyta pinodella* infiziert. Als Substrat diente 1 prozent. Zinzadze-Agar mit Zusätzen von 0—2% Rohrzucker. Nicht infizierte Kontrollen wurden den infizierten Reihen jeweils entsprechend auch hier aufgestellt und entwickelten sich normal. Der gesamte Versuch wurde mit drei gleichzeitigen Wiederholungen durchgeführt.



Graphische Darstellung 4
Schädigung verschiedener Pflanzen durch *Ascochyta pinodella* bei variierten Rohrzuckerkonzentrationen

Aus der graphischen Darstellung 4 läßt sich zunächst die schon früher beobachtete Tatsache ersehen, daß trotz Beseitigung der durch die Rhizosphärenmikroflora bedingten Resistenz noch weitgehende Unterschiede im Ausmaß der Schädigung der einzelnen Pflanzenarten bestanden, die auch bei Zugabe verschiedener Rohrzuckermengen erhalten blieben. Die Ansicht, daß die Resistenz von Wurzeln höherer Pflanzen gegen Infektionen vom Boden her durch verschiedene, voneinander isolierbare Faktorenkomplexe bedingt ist (S. 75), erfährt damit eine weitere Bestätigung.

Im Gegensatz zu den ziemlich gleichmäßig verlaufenden Schädigungskurven von Saaterbse, Felderbse und Mais fällt auf, daß die Kurven von Wicke, Weizen und Raps einen zweiten Gipfelpunkt besitzen. Die bei sämtlichen Versuchen dieser Art angewandte Methode gewährte allen Pflanzen innerhalb einer Reihe weitgehend gleichartige Lebensbedingungen und zugleich in den infizierten Reihen genau so gleichartige Infektionsmöglichkeiten für den pilzlichen Angreifer. Tatsächlich zeigten bei allen Versuchen die verschiedenen Wiederholungen, die stets gleichzeitig zur Ermittlung der Ergebnisse herangezogen wurden, nur minimalste Abweichungen voneinander, wenn dieses überhaupt der Fall war. Jede Kurve kann also als weitgehend gesichert angesehen werden, und im Rahmen eines Versuches lassen sich größere Un-

regelmäßigkeiten im Kurvenverlauf nicht durch Ungleichmäßigkeiten in der Versuchsanstellung und -durchführung erklären. Der Ab- und Wiederzunahme der Schädigung von Wicke, Weizen und Raps bei steigenden Zuckerkonzentrationen war also genau so Beachtung zu schenken wie dem Verhalten von Weizen und Raps im vorigen Versuch.

Eine Erklärung hierfür läßt sich aus Versuchen von Schroeder und Walker (1942) ableiten. Die genannten Autoren befaßten sich mit dem Einfluß verschiedener Umweltfaktoren auf die Resistenz von Erbsen gegen *Fusarium oxysporum* und beobachteten interessante Wechselbeziehungen zwischen Wirt und Parasit unter Versuchsbedingungen, die es sehr unwahrscheinlich machen, daß eine spezifische Bodenmikroflora auf das Ergebnis entscheidenden Einfluß hatte. Bei der für den Wirt optimalen Temperatur von 21 °C verminderte sich dessen Anfälligkeit dem Pilz gegenüber mit Erhöhung der Nährstoffkonzentration, und zwar bei der resistenteren Sorte in wesentlich stärkerem Ausmaß. Wenn der Versuch dagegen unter sonst gleichen Bedingungen bei 27 °C, dem Optimum für die Entwicklung des Parasiten, durchgeführt wurde, bewirkte die Erhöhung der Nährstoffkonzentration zunächst einen kleinen Abfall, dann jedoch einen steilen Anstieg des Krankheitsbefalles, wobei sich kein Unterschied zwischen resistenteren und anfälligeren Sorten zeigte. Bei 21 °C machte sich außerdem im Vergleich von zwei zu verschiedenen Jahreszeiten durchgeführten Versuchen ein deutlicher Einfluß der Lichtqualität und -quantität bemerkbar, was bei 27 °C nicht der Fall war. Diese Befunde deuten darauf hin, daß die Nährstoffgaben sowohl auf den Wirt als auch auf den Parasiten wirken, und zwar — entsprechend dem Minimumgesetz — in erster Linie auf denjenigen Teil von beiden, dessen Lebensbedingungen seinem Optimum am weitesten angenähert sind. So wurde bei 21 °C vorwiegend der Wirt, bei 27 °C dagegen vorwiegend der Parasit von der Erhöhung der Nährstoffkonzentration beeinflußt.

Steinberg (1947b) fand bei der Untersuchung der Wirkung von organischen Stoffen auf steril gezogene junge Tabakpflanzen, daß deren Wachstum durch Zugabe bestimmter Zuckerarten zu dem als Substrat dienenden Agar begünstigt wurde. Diese Feststellung deckt sich mit der während der beiden letzten Versuche gemachten eigenen Beobachtung, daß die nicht infizierten Kontrollpflanzen bei den höchsten Zuckerkonzentrationen am kräftigsten entwickelt waren. Auch Nährstoffgaben organischer Natur können also offenbar nicht nur den Parasiten, sondern auch den autotrophen Wirt direkt beeinflussen.

Daß *Ascochyta pinodella* durch Glukose stärker begünstigt wurde als durch Rohrzucker, wurde schon im Anschluß an den Versuch C 1 festgestellt. Unter der Annahme, daß die verschiedenen Zuckerarten nicht nur den Parasiten, sondern auch die einzelnen Wirtspflanzenarten verschieden beeinflussen, ließe sich dann auch das Verhalten von Weizen und Raps in diesem Versuch erklären. So mag in der Glukose-Serie die bei beiden Konzentrationen gleiche Reaktion von Raps ein Ausdruck dafür sein, daß die Verdoppelung der Glukosemenge auf Wirt und Parasit zugleich wirkte, so daß keine Verschiebung des gegenseitigen Gleichgewichtsverhältnisses in Erscheinung trat, während in der

Rohrzucker-Serie der Raps durch Verdoppelung der Zuckerkonzentration verhältnisnäßig stärker begünstigt wurde. Analog ließe sich auch das Verhalten des Weizens interpretieren.

Aus einem Vergleich von Tabelle 8 mit der graphischen Darstellung 4 läßt sich ferner ersehen, daß von den in die Untersuchung einbezogenen Pflanzen Wicken, Weizen und Raps besonders empfindlich auf jede Änderung ihrer Umweltbedingungen einschließlich der Nährstoffverhältnisse reagieren. Der Versuch C 1 wurde am 11. Oktober angelegt und genoß dadurch günstigere Lichtverhältnisse und eine um 3—4° C höhere Durchschnittstemperatur als der nächstfolgende, am 13. Dezember begonnene Versuch C 2. Eine Gegenüberstellung des Verhaltens von Saaterbse, Felderbse und Mais im vorliegenden Versuch C 2 und in der Rohrzucker-Serie des vorhergehenden Versuches läßt erkennen, daß diese drei Pflanzenarten auf die ungleichartigen Umweltbedingungen nicht merklich ansprachen (vgl. die jeweilige Schädigung bei 1 bzw. 2 % Rohrzucker), während Wicke, Raps und Weizen in beiden Versuchen längst nicht so gleichartig reagierten.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß das Ergebnis dieser Versuche also nicht ausschließlich durch die Wirkung der verschiedenen Substrate auf den Pilz bestimmt ist. Die ermittelte Schädigung der Pflanze ist vielmehr in jedem einzelnen Falle als Ausdruck eines durch die jeweiligen Umweltbedingungen bestimmten Gleichgewichtsverhältnisses zwischen Wirt und Parasit aufzufassen, oder — mit anderen Worten — als Resultante von verschiedenartigen Kräften, die gleichzeitig in verschiedenen Stärken und Richtungen wirksam sind.

b) Versuche mit sterilen Filtraten pilzbewachsener Nährlösungen

Entsprechend dem für diesen Abschnitt aufgestellten Arbeitsplan (S. 82) war weiter der Versuch zu unternehmen, die Wirkung von Nährstoffgaben auf den Wirt von derjenigen auf den Parasiten mit größtmöglicher Exaktheit zu isolieren.

Vorversuch

Je 50 cm³ Knop-Lösung mit einem Zusatz von 0,1 bzw. 0,7 % Rohrzucker wurden in 100 cm³-Erlenmeyerkolben mit *Fusarium culmorum* beimpft und nach 25 Tagen durch Filtrieren entkeimt. Von dem Filtrat der pilzbewachsenen Knop-Lösung mit 0,1 % Zucker wurden 3,5 cm³ zu 6,5 cm³ Knop-Agar hinzugegeben (Serie I), vom Filtrat mit 0,7 % Zucker 0,5 cm³ zu 9,5 cm³ Knop-Agar (Serie II). Dabei wurde nach der S. 80 für Serie II des Versuches III/3 beschriebenen Methode verfahren. Die Rohrzuckerkonzentration betrug also in beiden Serien des vorliegenden Versuches in jedem Reagenzglas — auf den Gesamtinhalt von jeweils 10 cm³ bezogen — maximal 0,035 %. Die Agarmenge in der Knop-Lösung, zu der das Filtrat von *Fusarium culmorum* hinzugegeben wurde, war auch hier jedesmal so bemessen, daß die 10 cm³ Substrat in jedem Glase einen Agargehalt von 1 % hatten. In beiden Serien wurden die Reagenzgläser mit steril gekeimten Erbsen belegt, deren Entwicklung 24 Tage nach Versuchsbeginn nach dem S. 78 beschriebenen Schema beurteilt wurde. Dabei zeigte sich, daß die

Erbsen in Serie I kaum gehemmt waren (Endwert 3,25), während in Serie II alle Pflanzen starke Krankheitssymptome aufwiesen (Endwert 12,0).

Dieses Ergebnis beweist, daß für die Schädigung nicht der prozentuale Anteil des toxischen Kulturfiltrates am Substrat der höheren Pflanze, sondern vor allem der Zuckergehalt der Nährlösung während des Pilzwachstums ausschlaggebend ist. Die Wirkung größerer Mengen eines bei geringerer Zuckerkonzentration der flüssigen Nährlösung entstandenen toxischen Filtrates kommt derjenigen entsprechend kleinerer Mengen eines Kulturfiltrates, das von einer Nährlösung mit höherem Zuckergehalt gewonnen wurde, nicht gleich.

Die pH-Werte wurden in allen nach dieser Methode durchgeführten Versuchen vor dem Beimpfen der Nährlösungen mit dem zu prüfenden Pilz und nach dem Abfiltrieren desselben registriert. In den verschiedenen zuckerhaltigen Nährlösungen wurden nennenswerte Reaktionsverschiebungen niemals festgestellt. Bei der Beschreibung derjenigen Versuchsreihen, in denen Pepton verwendet wurde, wird auf die Veränderung der pH-Werte besonders hingewiesen.

3. Schädigung verschiedener Pflanzen durch sterile Filtrate von *Fusarium culmorum* bewachsener Nährlösungen mit variiertem Rohrzuckergehalt

Knop-Lösungen mit verschiedenem Rohrzuckergehalt wurden mit *Fusarium culmorum* beimpft. Nach 25 Tagen wurden von diesen Kulturen sterile Filtrate gewonnen, die in zwei verschiedenen Mengenverhältnissen mit Knop-Agar versetzt wurden. Zwei gleichzeitige Wiederholungen wurden angelegt. Die Einzelheiten der Anordnung sowie die 29 Tage nach Versuchsbeginn ermittelte Schädigung der Pflanzen, von denen dieses Substrat bewachsen wurde, gehen aus Tabelle 9 hervor. Die Kontrollpflanzen entwickelten sich in allen Reihen des Versuches gesund und kräftig.

Die Reaktion sämtlicher Pflanzen bestätigt den Befund des Vorversuches. Es zeigte sich wiederum, daß die Pathogenität von *Fusarium culmorum* durch Erhöhung der Zuckergabe erheblich gesteigert wurde.

Tabelle 9

Schädigung verschiedener Pflanzen durch sterile Filtrate von *Fusarium culmorum* bewachsener Nährlösungen

Gesunde Kontrollpflanze = 3

Prozentualer Anteil des Kulturfiltrates an 10 cm³	25%		50%	
Pilz gezogen auf Knop-Lösung mit einem Rohrzuckerzusatz von	0,1%	0,7%	0,1%	0,7%
Saaterbse	3	12,5	5,5	15,75
Wicke	3	14,5	3	15,25
Mais	3	7,25	3	10
Weizen	3,5	8,25	3,5	10

4. Steigerung der Widerstandskraft verschiedener Pflanzen gegen steriles Kulturfiltrat von *Fusarium culmorum* durch nachträgliche Zugabe von Rohrzucker zur Pflanze

Von einer durch *Fusarium culmorum* 17 Tage lang bewachsenen Knop-Lösung mit Zusatz von 1% Rohrzucker und 5% Erbsenkeimlingsextrakt wurde ein steriles Filtrat gewonnen, von dem jeweils 2,5 cm³ teils mit 7,5 cm³ reinem Knop-Agar (Serie I), teils mit 7,5 cm³ Knop-Agar mit einem Zu-

satz von 2,66% Rohrzucker (Serie II) unter sterilen Kautelen in Reagenzgläsern zusammengebracht wurden. In Serie II machte also diese nachträgliche Rohrzuckergabe, auf den Gesamtinhalt eines Reagenzglases von jeweils 10 cm^3 bezogen, 2% aus. Der Versuch wurde mit zwei Wiederholungen durchgeführt.

Nach 22 Tagen wurde folgende Endwerte ermittelt (Serie I/Serie II): Saaterbse 15,5/14; Wicke 14,5/14,5; Mais 5,75/4,5; Weizen 11,5/6. Die Schädigung von Erbsen, Mais und Weizen wurde also durch die Zuckerzugabe zur Pflanze herabgemindert, und zwar bei Weizen in beachtlichem Ausmaß. Ein besonderes Reaktionsvermögen von Weizen auf Zuckerzugaben wurde bereits im Versuch C 2 (S. 84—86) beobachtet. Die Wicke zeigte sich in allen bisherigen Versuchen mit *Fusarium culmorum* am empfindlichsten gegen die toxischen Produkte dieses Pilzes. Offenbar stand sie im vorliegenden Versuch so stark unter dem Einfluß dieser toxischen Wirkung, daß der Zuckerzusatz nicht in krankheitsminderndem Sinne in Erscheinung treten konnte. Die veränderte Reaktion von Erbsen, Mais und Weizen ist nur dadurch zu erklären, daß den Wurzelgeweben dieser Pflanzen durch den Zusatz von Zucker zum Substrat eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen die Schädigung durch die toxischen Stoffwechselprodukte von *Fusarium culmorum* induziert wurde.

5. Wirkung von Zucker- und Peptonzusätzen auf die Toxizität von *Ascochyta pinodella* bzw. *Fusarium culmorum* bewachsener Nährlösungen

Von Knop-Lösungen mit verschiedenen Pepton- und Rohrzuckerzusätzen, die 20 Tage lang von *Ascochyta pinodella* bzw. *Fusarium culmorum* bewachsen worden waren, wurden sterile Filtrate gewonnen, von denen wechselnde Mengen zu Knop-Agar nach der gleichen Methode wie in den bereits beschriebenen Versuchen dieser Art unter sterilen Kautelen zugesetzt wurden. Bei der Prüfung der pH-Werte ergab sich, daß in den Nährlösungen sowohl in der *Ascochyta pinodella*- als auch in der *Fusarium culmorum*-Serie durch das Pilzwachstum die Reaktion nach der sauren Seite hin verschoben worden war, und zwar etwa von pH 7,0 bei der Beimpfung nach pH 5,5 nach der Filtration. In diesen Filtraten wurde durch Zusatz von KOH der Ausgangs-pH-Wert wieder hergestellt. Die Einzelheiten der Anordnung und die Ergebnisse dieses Versuches, der mit drei Wiederholungen durchgeführt wurde, sind in Tabelle 10 zusammengefaßt. Erstmalig wurden in diesem Versuch Schädigungen der Kontrollen beobachtet, weshalb diese in die Tabelle einbezogen wurden.

Generell ist aus Tabelle 10 zunächst ersichtlich, daß bei der *Ascochyta pinodella*-Serie in den Versuchsreihen die Schädigung der Pflanzen mit steigender Peptonkonzentration zunahm. In der *Fusarium culmorum*-Serie dagegen waren die Pflanzen eindeutig in der zuckerhaltigen Reihe (Spalte 7) am stärksten geschädigt. Dieses läßt vermuten, daß bei *Fusarium culmorum* für den Aufbau toxischer Stoffe Kohlenhydrate in erster Linie von Bedeutung sind.

Im einzelnen läßt sich ferner ersehen, daß in der *Ascochyta pinodella*-Serie in den Versuchsreihen ohne Zucker (Spalte 3 bzw. 5) die Schädigung

von Mais und Weizen stets merklich geringer war als in den entsprechenden Kontrollreihen (Spalte 4 bzw. 6), daß also die schädigende Wirkung von Pepton auf beide Pflanzenarten durch Bewachsenlassen mit *Ascochyta pinodella* herabgemindert wurde, was bei den Leguminosen nicht der Fall war. In der *Fusarium culmorum*-Serie wich, abgesehen von der Wicke, die Entwicklung der Pflanzen in den Versuchsreihen ohne Zucker (Spalte 9 bzw. 11) von der der entsprechenden Kontrollreihen (Spalte 10 bzw. 12) nicht in größerem Ausmaß ab. Eiweißstoffe scheinen demnach für den Aufbau toxischer Substanzen durch *Fusarium culmorum* keine entscheidende Rolle zu spielen.

Tabelle 10

Schädigung verschiedener Pflanzen durch sterile Filtrate von *Ascochyta pinodella* bzw. *Fusarium culmorum* bewachsener Nährlösungen

Gesunde Pflanze = 3

Pilz	*Ascochyta pinodella*						*Fusarium culmorum*					
gezogen auf Knop-Lösung mit Zusatz von	1,5% Pepton, 1% Rohrzucker	Kontrolle zu Spalte Nr. 1	3% Pepton	Kontrolle zu Spalte Nr. 3	3% Pepton	Kontrolle zu Spalte Nr. 5	0,5% Pepton, 1% Rohrzucker	Kontrolle zu Spalte Nr. 7	1% Pepton	Kontrolle zu Spalte Nr. 9	1% Pepton	Kontrolle zu Spalte Nr. 11
Prozent. Anteil des Kulturfiltrats an	25%		25%		50%		25%		25%		50%	
10 cm³	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Saaterbse	4,25	3	4,75	3,75	7,25	4,75	11,25	3	3,5	3	6,75	3,75
Felderbse	3,25	3,5	4,5	4,25	8,75	8,75	12,25	3,5	4,25	3	6	3
Wicke .	7,25	4	8,25	6,75	10	9	14	4	7,75	4,25	11,75	6,75
Mais . .	3,5	4	3,5	6,75	9	10,5	8,5	4	4	3,5	4,5	4,25
Weizen .	4,5	4	5	7,5	7,5	9	7,5	4	3,75	4,25	6,25	7

Das Ergebnis der Versuche C 1—5 läßt sich dahingehend zusammenfassen, daß durch Ernährungsbedingungen das Ausmaß der Schädigung bestimmter Pflanzen durch *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* in verschiedener Weise beeinflußt werden kann, und zwar kann sowohl die Widerstandsfähigkeit der Wirtspflanze als auch die Pathogenität des Parasiten umgestimmt werden. Vermutlich laufen beide Vorgänge oft nebeneinander ab, und es wird in jedem einzelnen Falle außer von der augenblicklichen Disposition der Wirtspflanze und des Parasiten auch von der Gesamtheit der Umweltfaktoren und ihrer Einwirkung auf beide und ihre wechselseitigen Beziehungen zueinander abhängen, in welcher Richtung sich eine Änderung der Reaktion der höheren Pflanze bemerkbar macht.

Die fortlaufende makro- und mikroskopische Beobachtung aller Pflanzen in diesen Versuchen ergab über die tabellarisch und graphisch fixierten Endergebnisse hinaus noch einige interessante Aufschlüsse.

Der Stengel wurde von *Ascochyta pinodella* nur bei den beiden Erbsenarten angegriffen. Bei Mais, Weizen und Raps ließ sich in den zuckerhaltigen Substraten eine mit den verschiedenen Nährstoffkonzentrationen wechselnd starke Wachstumsbegünstigung des Pilzes in der unmittelbaren Umgebung der Wurzel feststellen. Während im nicht durchwurzelten Substrat nur

schwächere, hyaline Hyphen wuchsen, wurden in der Rhizosphäre und in den oberen Zellagen der Wurzelrinde kräftig gefärbte Chlamydosporen gebildet. In den zuckerfreien Substraten wurden, abgesehen von den Wurzelabschnitten in unmittelbarer Nachbarschaft des Samens, nur vereinzelte Zellen vom Pilz angegangen. Dagegen waren bei geringer Zuckerzugabe zusammenhängende Zellschichten besiedelt, innerhalb derer jedoch sowohl die Hyphen und Chlamydosporen des Pilzes als auch die Zellen des Wirtes einzeln voneinander unterscheidbar blieben. Ganze Strecken der Wurzel waren von dunklen Hyphenmänteln umkleidet. Durch eine solche, teilweise sehr dichte Umhüllung wurden lediglich die Wurzeln von Raps in ihren Lebensfunktionen überhaupt nicht behindert; sie bildeten normale, kräftige Seitenwurzeln und Wurzelhaare durch diesen Mantel hindurch aus. Mais und Weizen hingegen zeigten sich empfindlicher. An den Ansatzstellen der Seitenwurzeln drangen die Pilzhyphen zuerst tiefer in das Gewebe der Wurzel ein. Insbesondere bei der Erbse zerstörten sie die Seitenwurzelanlagen oft schon, ehe diese die Oberfläche der Hauptwurzel erreichen konnten (Abb. 3), auf der sich dann an Stelle der Seitenwurzeln längliche Partien infizierten Gewebes zeigten, wie dieses, durch *Fusarium culmorum* verursacht, auf Abb. 2c, Nr. 3 von links, an Maiswurzeln zum Ausdruck kommt. Ferner wurden stets auffällige Myzelanhäufungen an den Wurzelspitzen beobachtet, die besonders bei Mais als regelrechte Hauben die ganze Wurzelspitze überkleideten (Abb. 4). Bei Saaterbse, Felderbse und Wicke trat keine sichtbare Anhäufung von Myzel in der Rhizosphäre ein, und es ließ sich keine merkliche Wachstumsbegünstigung von *Ascochyta pinodella* beobachten. Die Zellen oder Zellverbände, die vom Pilz besiedelt waren, starben offensichtlich sehr schnell ab. Die Zellwände waren auf Längs- und Querschnitten durch befallene Gewebe nicht mehr erkennbar, und der Zellinhalt erschien als braune, verschwommene Masse, in der einzelne Elemente der Wirtszelle oder Organe des Pilzes nicht unterscheidbar waren. Gleiche Symptombilder wie bei den Leguminosenarten zeigten sich auch bei Mais, Weizen und Raps, wenn diese in den Substraten mit höheren Zuckerkonzentrationen durch den Pilz nachhaltiger geschädigt wurden. Besondere Abnormitäten im Wachstum der infizierten Pflanzen wurden in den *Ascochyta pinodella*-Serien nicht festgestellt.

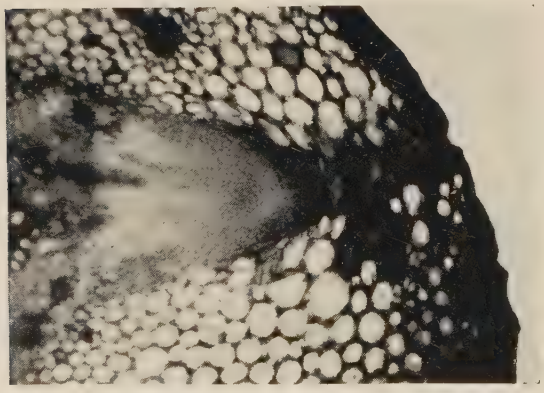


Abb. 3. Querschnitt durch die Wurzel einer 25 Tage alten, unter sterilen Bedingungen mit *Ascochyta pinodella* infizierten Erbsenpflanze; der Vegetationspunkt einer Seitenwurzel wird schon innerhalb der Hauptwurzel zerstört

Bei den durch *Fusarium culmorum* stärker geschädigten Pflanzen fielen dagegen bestimmte charakteristische Deformationen auf. Haupt- und Seitenwurzeln zeigten sich ver-

dickt und machten einen starren, gestauchten Eindruck (Abb. 2a, Nr. 2 von links, S. 79). Solche Pflanzen bildeten eine bedeutend erhöhte Anzahl von Seitenwurzeln aus, die meistens kurz und verkrümmt blieben. Ihre Wurzeloberfläche hatte ein schuppenartiges Aussehen. Diese Mißbildungen traten bei den durch *Fusarium culmorum* in Form von aktivem Pilzmyzel geschädigten Pflanzen genau so wie bei denen, die Filtraten pilzbewachsener Nährlösungen ausgesetzt gewesen waren. Im ersteren Falle konnte Myzel in den angegriffenen Geweben niemals mikroskopisch nachgewiesen werden. Diese Beobachtungen lassen vermuten, daß sich die Wirkung toxischer Stoffwechselprodukte des Pilzes nicht nur auf die wasserhaltende Kraft der Protoplasten erstreckt (S. 78), sondern daß dadurch sehr viel tiefergreifende Veränderungen in den Lebensfunktionen der ganzen Pflanze verursacht werden.

Abb. 4. Wurzelspitze von Mais, von *Ascochyta pinodella*-Myzel umhüllt (aus einer sterilen Kultur)

Linford (1931b) stellte an *Fusarium orthoceras*-infizierten Erbsen den oben beschriebenen ähnliche Symptome fest. Er führt die Hypertrophie der parenchymatischen Zellen und zum Teil auch die Steifheit kranker Pflanzen auf den erhöhten osmotischen Wert des Zellsaftes zurück, der von einer Anhäufung löslicher Reservestoffe herrühre. Als weiteren Grund für die Starrheit solcher Pflanzen stellte er eine Verstärkung der Zellwände fest, die mit einer abnorm frühzeitigen Reife der Stützgewebe des Sprosses Hand in Hand ging. Diese Beobachtungen in Verbindung mit einer erhöhten Regenerationsfähigkeit kranker Pflanzen führten Linford zu dem Ergebnis, daß die schließlich eintretende Welke und Nekrose infizierter Pflanzen nicht unmittelbare Reaktionen auf die Aktivität des Pilzes oder von ihm ausgeschiedener Toxine sind, sondern relativ unwichtige Kulminationspunkte einer langen Reihe tiefgreifender Veränderungen des pflanzlichen Stoffwechsels. Linford betont, daß diese Vorgänge in keiner Weise mit denen vergleichbar sind, die sich bei einer durch Wassermangel hervorgerufenen Welke beobachten lassen.

D. Wirkung pflanzlicher Ausscheidungen auf das Wachstum von *Ascochyta pinodella* und *Fusarim culmorum*

Im Abschnitt I und in den vorher beschriebenen Versuchsreihen des vorliegenden Abschnittes IV wurde festgestellt, daß Keimpflanzen sowohl im natürlichen Boden als auch unter sterilen Bedingungen durch Stoffausscheidungen

die Lebensbedingungen für Mikroorganismen in ihrer unmittelbaren Umgebung bedeutend verändern können. In diesem Zusammenhang ist bis jetzt noch die Frage offen geblieben, worauf das sehr unterschiedliche Verhalten von *Ascochyta pinodella* in der Rhizosphäre der untersuchten Pflanzenarten, das sich unter sterilen Bedingungen besonders deutlich beobachten ließ, zurückgeführt werden kann. In den anschließend beschriebenen Experimenten wird versucht, diese Vorgänge genauer kennenzulernen.

1. Agarverflüssigung

In den ersten Kulturen höherer Pflanzen auf 1prozent. Agar wurde beobachtet, daß bei allen untersuchten Pflanzenarten in der Umgebung des keimenden Samens im allgemeinen etwa acht Tage nach der Aussaat eine Verflüssigung des Agars einsetzte, die bei Mais stets quantitativ den größten Umfang erreichte; hier wurde unter bestimmten Bedingungen innerhalb von 14—16 Tagen das ganze Substrat verflüssigt. Um eine Beeinflussung der Ergebnisse hierdurch auszuschalten, wurden die Samen in den vorher beschriebenen Versuchen in die Reagenzgläser stets so eingebracht, daß die Ansatzstellen der Keimlinge an den Samen nicht direkt mit dem Substrat in Berührung kamen, wodurch die Verflüssigung verhindert wurde.

Unabhängig davon wurde diese Erscheinung näher untersucht. Auf Knop-Agar in Petrischalen steril gekeimte Mais- und Weizensamen wurden in Reagenzgläser auf 1 prozent. Knop-Agar ausgelegt, und zwar einige davon in der Weise, daß der Sproß zum Hineinwachsen in den Agar gezwungen wurde. Bei anderen, ebenfalls steril gekeimten Samen wurden die Embryonen unter sterilen Kautelen vom Samen losoperiert, wonach beide Teile getrennt in Reagenzgläser ausgelegt wurden. Es stellte sich heraus, daß die Agarverflüssigung ausschließlich vom Embryo ausgeht. Weder Teile des Sprosses noch die vom Embryo getrennten Samen waren in der Lage, den Agar anzugreifen, während die losoperierten Keimlinge eindeutig eine Verflüssigung des Substrates bewirkten.

2. Wachstumsbegünstigung von *Ascochyta pinodella* durch von verschiedenen Pflanzen bewachsene Nährlösungen

Diese Agarverflüssigung durch keimende Samen wurde methodisch ausgenutzt zu einem Versuch, Ausscheidungen wachsender Pflanzen biologisch nachzuweisen.

Saaterbsen, Wicken, Mais und Weizen wurden in Reagenzgläsern auf je 12 cm^3 0,4 prozent. Knop-Agars steril gezogen, wobei die steril gekeimten Samen beim Auslegen so weit in das Substrat hineingedrückt wurden, daß die Ansatzstelle des Keimlings am Samen in den Agar hineintauchte. Nach 35 Tagen war in allen Gläsern der größte Teil des Substrates verflüssigt. Die Pflanzen wurden zu diesem Zeitpunkt mit steriler Pinzette vorsichtig aus den Reagenzgläsern entfernt, wonach die Flüssigkeit aus diesen, nach den einzelnen Pflanzenarten getrennt, unter sterilen Kautelen zusammengegossen und gemischt wurde. In sterile Reagenzgläser, die mit einer entsprechenden Marke versehen waren, wurden davon je 16 cm^3 abgefüllt. Die Gläser wurden

im Wasserbad auf etwa 60 °C erwärmt und in ebenfalls erwärmte sterile Petrischalen ausgegossen. Jeder dieser Schalen wurden sodann 4 cm³ einer vom Sterilisieren noch flüssigen 5 prozent. Agarlösung unter vorsichtigem Hin- und Herbewegen zugesetzt, so daß die beiden Bestandteile des Substrates sich vor dem Erkalten innig vermischten. Jede Petrischale hatte also einen Gesamtinhalt von 20 cm³ mit einem Agargehalt von 1 %. Durch Aufsetzen von kreisrunden, pilzdurchwachsenen Agarscheiben von 4,5 mm Durchmesser auf die Mitte der Platten wurden diese sodann mit *Ascochyta pinodella* beimpft. Nach einer Woche wurde als Maß für das Wachstum des Pilzes auf den einzelnen Platten die Hyphendichte je Quadratmillimeter ermittelt. Auf jeder Platte wurde an acht verschiedenen Stellen jeweils im Abstand von 1,5 cm vom Rand der pilzdurchwachsenen Agarscheibe unter dem Mikroskop die Anzahl der Hyphen innerhalb eines Gesichtsfeldes von 0,4 mm² Fläche ausgezählt. Da von jedem Pflanzensubstrat zwei Schalen angelegt worden waren, beruhen die gefundenen Ergebnisse auf je 16 Messungen. Das arithmetische Mittel der 16 ausgezählten Werte wurde mit 2,5 multipliziert.

Die nach dieser Methode gefundenen Hyphendichten je Quadratmillimeter betrugen: im von Erbsen bewachsenen Substrat 21,88; bei Wicke 25,0; bei Mais 22,83; bei Weizen 40,58; in der Kontrolle (3 Schalen = 24 Messungen) auf reinem, unbewachsenem Knop-Agar 11,1. Proportional zu diesen Zahlen verhielten sich jeweils die Stärke der einzelnen Hyphen und die Chlamydosporenbildung auf den einzelnen Platten. Da die Substrate in die Petrischalen in dicker Schicht ausgegossen worden waren, ist es ausgeschlossen, daß das Versuchsergebnis von eventueller ungleicher Schichtdicke der Platten beeinflußt wurde. Es darf demnach als gesichert angesehen werden, daß die verschieden starke Wachstumsbegünstigung des Pilzes durch pflanzliche Ausscheidungen hervorgerufen wurde.

3. Bedeutung der Spermatosphäre

Stille (1950) fand, daß von keimenden Samen in größerem Umfang als bisher angenommen Stoffe an die Umgebung abgeschieden werden. Danach ließ sich vermuten, daß die im vorigen Versuch beobachtete Begünstigung des Wachstums von *Ascochyta pinodella* vorwiegend von Ausscheidungen des Samens verursacht wurde.

Petrischalen wurden mit je 40 cm³ eines 1 prozent. Knop-Agars beschickt, der durch Aufsetzen pilzdurchwachsener Agarscheiben von 4,5 mm Durchmesser auf die Mitte der Agaroberfläche mit *Ascochyta pinodella* bzw. *Fusarium culmorum* beimpft wurde. Nach 15 Tagen waren diese Platten von schwachem, hyalinem Myzel bis zum Rand bewachsen. Zu diesem Zeitpunkt wurden sie mit steril gekeimten Samen belegt, wobei je Schale je 3 Samen von Saaterbse, Felderbse, Wicke und Weizen, je 2 Maissamen und je 4 Rapssamen verwendet wurden.

Als Kontrolle wurde der gleiche Versuch zur selben Zeit in Reagenzgläsern angelegt. Dabei wurde nach der S. 73 beschriebenen Methode verfahren mit der Abweichung, daß die Reagenzgläser, genau wie die Petrischalen, bereits 15 Tage vor dem Auslegen der Samen mit pilzdurchwachsenen

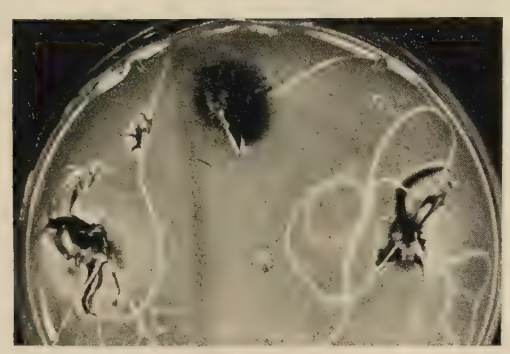


Abb. 5a

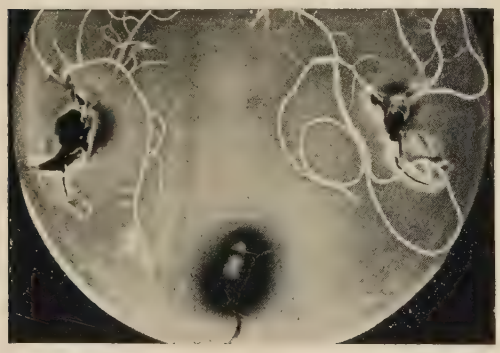


Abb. 5b

Abb. 5
17 Tage alte, unter sterilen Bedingungen mit *Fusarium culmorum* infizierte, in Petrischalen gezogene Weizenpflanzen; Ansicht von oben (a), auf der in der Mitte der Platte die aufgebrachte pilzdurchwachsene Agarscheibe erkenntlich ist, und von unten (b). Die Halme wurden unmittelbar vor dem Fotografieren entfernt

Agarscheiben von 4,5 mm Durchmesser beimpft wurden, die nicht wie sonst auf die Mitte der schräg erstarrten Agaroberfläche gesetzt wurden, sondern an deren oberen Rand. Die jungen Pflanzen kamen also mit dieser Scheibe nicht in direkte Berührung, sondern wurden von dem Myzel infiziert, das in der gleichen Weise wie in den Petrischalen die Agaroberfläche fein überzogen hatte.

Da in den Petrischalen die Wurzeln der Pflanzen am Boden des Gefäßes entlangwuchsen und der Agar lichtdurchlässig war, konnten besonders die Verhältnisse in der Rhizosphäre gut verfolgt werden, wenn die umgedrehten Petrischalen unter dem Mikroskop betrachtet wurden (Abb. 5a und b).

Die einzelnen Pflanzen waren in den Petrischalen in gleicher Weise geschädigt wie in den Reagenzgläsern. In den Petrischalen war in der Umgebung der Mais- und Weizensamen schon nach wenigen Tagen eine auffallende Begünstigung des Pilzwachstums erkennbar, die in üppiger Entwicklung kräftiger Hyphen mit zahlreichen gefärbten Chlamydosporen ihren Ausdruck fand (Abb. 5a). Dadurch bestätigte sich die Vermutung, daß die Wachstumsbegünstigung von *Ascochyta pinodella* im vorigen Versuch hauptsächlich durch Samenausscheidungen bedingt war und wohl nur zu einem kleinen Teil, wenn überhaupt, durch Wurzelexkrete.

Diskussion

Verschiedene Schlußfolgerungen, auf die im Anschluß an die einzelnen Versuchsreihen noch nicht hingewiesen wurde, ergeben sich aus einer Gegenüberstellung der Ergebnisse der einzelnen Arbeitsabschnitte.

Es fällt zunächst auf, daß die Vorgänge, die sich in der Spermatosphäre und in der Rhizosphäre infizierter Pflanzen abspielen, auf das Verhalten der Pflanze gegenüber dem angreifenden Parasiten nur dann einen wichtigen Einfluß ausübten, wenn die betreffende Art unter natürlichen Bedingungen eine weitgehende oder völlige Resistenz gegen den Parasiten besitzt. Die

abweichenden Infektionsbedingungen in den Versuchen B 1 und B 2 veränderten die Reaktion von Mais und Weizen gegenüber *Fusarium culmorum* weitgehend, während bei der anfälligen Saaterbse in beiden Fällen ein 100prozent. Schaden eintrat. Die geringere Schädigung der Saaterbse durch *Fusarium culmorum* im Versuch B 4 ist in erster Linie auf andere Ursachen zurückzuführen [1]). Es kommt indessen auch in diesem Versuch zum Ausdruck, daß der Einfluß der Bodenmikroflora für die Reaktion der anfälligen Saaterbse gegenüber *Fusarium culmorum* ziemlich bedeutungslos zu sein scheint. Bei allen unter natürlichen Bedingungen widerstandsfähigeren Pflanzenarten machte sich die schädigende Wirkung von *Fusarium culmorum* im Sand deutlich stärker bemerkbar als in der Ackererde, während sich die Saaterbse in beiden Bodenarten gleich schlecht entwickelte.

Es konnte daher auch nicht überraschen, daß durch die Ausschaltung der Rhizosphärenmikroflora durch Kultur der Pflanzen unter sterilen Bedingungen das Verhalten der Erbsen gegenüber *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* wesentlich weniger beeinflußt wurde als das der anderen Pflanzenarten. Ob diese Erscheinung auf Besonderheiten in der anatomischen oder physiologischen Struktur der untersuchten Erbsenart oder -sorte zurückzuführen ist, wäre durch analoge Versuche mit Erbsen und solchen Bodenpilzen, gegen die sie unter natürlichen Bedingungen resistent sind, zu prüfen. Wahrscheinlicher ist jedoch die Erklärung, daß das Verhältnis der anfälligen Wirtspflanze zum Parasiten einen so eindeutig dyssymbiotischen (Schaede 1948) Charakter besitzt, daß in diesem Bereich stattfindende Gleichgewichtsverschiebungen nicht mehr wahrnehmbar sind.

Ferner ergibt sich ein interessanter Einblick in das Wesen der Resistenz bestimmter Pflanzenarten gegen die untersuchten Parasiten. Eine solche Resistenz ist offenbar nicht allein anatomisch bedingt; sie wäre demnach nicht oder zumindest nicht ausschließlich als eine der Pflanze ursprünglich eigene, einheitliche, im Pflanzenkörper lokalisierte Eigenschaft anzusehen, sondern vielmehr als eine Reaktionsnorm, die in der Form, in der sie in Erscheinung tritt, erst durch das Zusammenwirken einer bestimmten Lebenstätigkeit der Pflanze besonders mit biotischen Faktoren ihrer Umwelt ausgelöst wird. Auch hier muß vorläufig offenbleiben, ob die beobachteten Verhältnisse an die untersuchten Kombinationen von Pflanzen und Parasiten gebunden sind oder ob sie auch bei anderen Pflanzenarten verwirklicht sind. Letzteres kann vorläufig, solange umfangreichere Versuchsergebnisse noch ausstehen, nur vermutet werden.

Abschließend läßt sich feststellen, daß es wahrscheinlich in der Gesamtheit der im Boden zusammenwirkenden Kräfte keine unabhängig veränderlichen Größen gibt. Die Variation eines Faktors wird teils unmittelbar,

---

[1]) Die Versuche B 1 und B 2 liefen zeitlich nebeneinander her, während der Versuch B 4 vier Monate später angelegt wurde. Für die bessere Entwicklung der Saaterbsen in dem letztgenannten Versuch sind nicht allein die Infektionsbedingungen verantwortlich zu machen; diese Erscheinung ist vielmehr vor allem auf eine Herabminderung der Pathogenität von *Fusarium culmorum* durch längere ununterbrochene Kultur auf künstlichem Nährboden zurückzuführen (S. 74).

teils mittelbar viele oder alle anderen Faktoren oder Faktorenkomplexe beeinflussen. Die daraus resultierende Veränderung des gesamten Milieus — die sich ihrerseits in den meisten Fällen wieder nur indirekt an Veränderungen der Reaktion eines bestimmten Indikators ermitteln lassen wird — braucht deshalb weder in der Richtung noch im Ausmaß der Initialvariation zu entsprechen.

Die eingehende Erforschung der hier berührten Gebiete der Bodenmikrobiologie und der Phytopathologie auf breiterer Basis erscheint sowohl vom Standpunkt der Wissenschaft als auch von dem der Praxis aus lohnend, wie bereits Winter (1950a) betont hat. Wir sind bis heute äußerst unvollkommen über die Wirkungen des gleichzeitigen gemischten Anbaues mehrerer Pflanzenarten und über den Einfluß der Fruchtfolge auf vom Boden her angreifende Krankheitserreger unterrichtet. Die systematische Einbeziehung der in dieser Richtung zweifellos vorhandenen, bis heute jedoch noch weitgehend unbekannten und ungenutzten Möglichkeiten in den Kreis der Pflanzenhygiene- und Pflanzenschutzmaßnahmen dürfte sogar mehr und mehr auch zu einer wirtschaftlichen Notwendigkeit werden, wenn — worauf manche Anzeichen hindeuten — die chemischen Bekämpfungsmethoden sich auf lange Sicht gesehen als nicht ratsam erweisen sollten.

Zusammenfassung

Das Zustandekommen einer Infektion von Erbsen durch *Ascochyta pinodella* bzw. *Fusarium culmorum* ist genau so wie die Wirkung bestimmter Vorfrüchte auf die Schädigung nachgebauter Erbsen durch die genannten Pilze im natürlichen Boden einer Vielzahl von Einflüssen unterworfen. Es wird versucht, auf zwei verschiedenen, einander ergänzenden Wegen Einblick zu erhalten in die Vorgänge, die sich beim Zusammenleben dieser Fuß- und Welkekrankheitserreger der Erbse mit den Wurzeln verschiedener Kulturpflanzen abspielen. Einmal wurden diese Pflanzen in Topfversuchen mit *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* infiziert, zum anderen wurden einzelne Teilvorgänge aus dem Gesamtkomplex des im natürlichen Boden ablaufenden Geschehens unter weitgehend kontrollierten Bedingungen synthetisiert.

I. Bei Infektionsversuchen in verschiedenen Bodenarten zeigten sich keinerlei Korrelationen zwischen der Empfindlichkeit oder Widerstandsfähigkeit einer Pflanzenart gegenüber einer Schädigung durch *Ascochyta pinodella* bzw. *Fusarium culmorum* und einer eintretenden oder fehlenden Wachstumsbegünstigung dieser Pilze in der Rhizosphäre der betreffenden Art. Zwischen dem Schädigungsgrad bestimmter Vorfrüchte, die mit einem der beiden Organismen infiziert waren, und der Entwicklung nachgebauter, nicht erneut infizierter Erbsen ließen sich keine Beziehungen feststellen.

Die Widerstandsfähigkeit von Wicken, Mais, Weizen und Raps gegen *Fusarium culmorum* war in Sand und Bodenmischungen mit höherem Sandanteil geringer als in Acker- und Komposterde.

Die Erbse bewirkte keine spezielle Anreicherung von *Ascochyta pinodella* oder *Fusarium culmorum* im Boden, sie beeinflußte jedoch dessen Beschaffenheit in einer für ihre eigene Art ungünstigen Weise. Dagegen reicherte Mais als

nicht anfällige Frucht in seiner Rhizosphäre *Ascochyta pinodella* in erheblichem Maße an. Es zeigte sich also, daß eine nicht anfällige und daher harmlos erscheinende Frucht die Bodenverseuchung stärker begünstigen kann als die anfällige Erbse.

II. Die Wurzelresistenz der untersuchten Pflanzen gegen *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* läßt sich in zwei verschiedene, voneinander isolierbare Komponenten zerlegen. Sie wird bestimmt von der Rhizosphärenmikroflora einerseits und von in der Wurzel selbst liegenden infektionshemmenden Eigenschaften andererseits.

III. *Fusarium culmorum* ruft Schädigungen bestimmter Pflanzen in erster Linie durch Abscheidung toxischer Stoffwechselprodukte hervor, die nur an die Wurzeloberfläche der betreffenden Pflanze zu gelangen brauchen, während *Ascochyta pinodella* die Wurzelgewebe einer Pflanze aktiv besiedeln muß, um Krankheitssymptome hervorzurufen. Bei *Fusarium culmorum* sind für den Aufbau des Toxins hauptsächlich Kohlenhydrate von Bedeutung.

IV. Das Verhalten verschiedener Pflanzenarten gegenüber *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* unter sterilen Bedingungen kann durch Variation der Ernährungsbedingungen umgestimmt werden. Es kann sowohl die Empfindlichkeit oder Unempfindlichkeit der Wirtspflanze als auch die Pathogenität des Parasiten verschoben werden. Im ersteren Falle wurde durch Zuckerzugaben die Reaktion verschiedener Pflanzen entgegengesetzt beeinflußt, und zwar wurde die Widerstandsfähigkeit gegen *Ascochyta pinodella* herabgesetzt, diejenige gegen die toxischen Stoffwechselprodukte von *Fusarium culmorum* aber erhöht.

Das unterschiedliche Verhalten von *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* in der Umgebung junger Keimpflanzen wird — besonders am Anfang der Entwicklung der betreffenden Pflanzen — maßgebend von Ausscheidungen des Samens bestimmt.

Schrifttum

Ala. Agr. Exp. Sta., 1937. Report 1937. Botany and Plant Pathology 24—25. Ref. Rev. Appl. Mycol. **17**, 286—287, 1938.

Clark, F. E., 1939. Effects of soil amendments upon bacterial populations associated with roots of wheat. Trans. Kansas Acad. Sci. **42**, 91—96. Ref. Biol. Abstr. **14**, 13 792, 1940.

Clark, F. E. and Thom, C., 1939. Effects of organic amendments upon the microflora of the rhizosphere of cotton and wheat. Trans. Third Comm. Internat. Soc. Soil Sci. Vol. A, 94—100. Ref. Biol. Abstr. **14**, 1261, 1940.

Eaton, F. M. and Rigler, N. E., 1946. Influence of carbohydrate levels and root surface microfloras on Phymatotrichum root rot in cotton and maize plants, Jour. Agr. Res. **72**, 137—161.

Ezekiel, W. N., Taubenhaus, J. J. and Fudge, J. F., 1932. Growth of Phymatotrichum omnivorum in plant juices as correlated with resistance of plants to root rot. Phytopathology **22**, 459—474.

Fuchs, W. H., 1935. Die Getreidefußkrankheiten im Gebiet von Halle. Kühn-Archiv **34**, 115—120. Ref. Rev. Appl. Mycol. **15**, 566—567, 1936.

Garner, W. W., Lunn, W. M. and Brown, D. E., 1925. Effects of crops on the yields of succeeding crops in the rotation, with special reference to tobacco. Jour. Agr. Res. **30**, 1095—1132.

Garrett, S. D., 1936. Soil conditions and the take-all disease of wheat. Ann. Appl. Biol. **23**, 667—699.

Garrett, S. D., 1937. Soil conditions and the take-all disease of wheat, II. The relation between soil reaction and soil aeration. Ann. Appl. Biol. **24**, 747.

Garrett, S. D., 1938. Soil conditions and the take-all disease of wheat, III. Decomposition of the resting mycelium of *Ophiobolus graminis* in infected wheat stubble buried in the soil, Ann. Appl. Biol. **25**, 742—766.

Garrett, S. D., 1944. Root disease fungi. Annales Cryptogamici et Phytopathologici. Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., USA.

Gottlieb, D., 1944. The mechanism of wilting caused by *Fusarium bulbigenum* var. *lycopersici*. Phytopathology **34**, 41—59. Ref. Biol. Abstr. **18**, 7390, 1944.

Gräf, G., 1930. Über den Einfluß des Pflanzenwachstums auf die Bakterien im Wurzelbereich, Zbl. Bakt. II **82**, 44—69.

Haymaker, H. H., 1928. Relation of toxic excretory products from two strains of *Fusarium lycopersici* Sacc. to tomato wilt. Jour. Agr. Res. **36**, 697—719.

Isakowa, A. A. and Smirnowa, A., 1937. The influence of various microbe complexes of bacteriorhizas on the development of higher plants. C. R. (Doklady) Acad. Sci. de l'URSS. **14**, 397—398, Ref. Bot. Zbl. **30** (172), 224—225, 1938.

Linford, M. B., 1931 a. Transpirational history as key to the nature of wilting in the *Fusarium* wilt of peas. Phytopathology **21**, 791—796.

Linford, M. B., 1931 b. Studies of pathogenesis and resistance in pea wilt caused by *Fusarium orthoceras* var. *pisi*. Phytopathology **21**, 797—826.

Linford, M. B., 1931 c. Wound inoculation in relation to resistance in the *Fusarium* wilt of peas. Phytopathology **21**, 827—833.

Lochhead, A. G., 1940. Qualitative studies of soil micro-organism. III. Influence of plant growth on the character of the bacterial flora. Can. Jour. Res. Sect. C Bot. Sci. **18**, 42—53. Ref. Biol. Abstr. **14**, 16562, 1940.

Lochhead, A. G. and Thexton, R. H., 1947. Qualitative studies of soil micro-organisms, VII. The rhizosphere-effect in relation to the amino acid nutrition of bacteria. Can. Jour. Res. Sect. C Bot. Sci. **25**, 20—26. Ref. Rev. Appl. Mycol. **27**, 41, 1948.

Lochhead, A. G., Timonin, M. I. and West, P. M., 1940 a. The microflora in the rhizosphere in relation to resistance of plants to soil-borne pathogens. Can. Publ. Health Jour. **31**, 27—29. Ref. Biol. Abstr. **15**, 1414, 1941.

Lochhead, A. G., Timonin, M. I. and West, P. M., 1940 b. The microflora of the rhizosphere in relation to resistance of plants to soil-borne pathogens. Sci. Agr. Ottawa **20**, 414—418. Ref. Biol. Abstr. **15**, 1415, 1941.

Mannozzi-Torini, L., 1932. Influence des produits d'excrétion des champignons du sol sur le développement du blé. Boll. Sez. Ital. della Soc. Internaz. Microbiol. **4**, 244—248. Ref. Rev. Appl. Mycol. **12**, 85, 1933.

Marchionatto, J. B., 1935. Argentine Republic: Species of *Fusarium* existing in the country. Internat. Bull. Plant Prot. **9**, 125. Ref. Rev. Appl. Mycol. **14**, 720, 1935.

Meijers, P. G., 1941. Opmerkingen over „erwten-voetziekte". Tijdschr. Plantenziekten **47**, 90—93. Ref. Biol. Abstr. **20**, 3907, 1946.

Moritz, O., 1932. Weitere Studien über die Ophiobolose des Weizens. Arb. d. B. R. A. **20**, 27—48.

Müller-Kögler, E., 1938. Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit des Getreides und den Wirtspflanzenkreis ihres Erregers (*Ophiobolus graminis* Sacc.). Arb. d. B. R. A. **22**, 271—319

Noble, R. J., 1931. New South Wales: Plant diseases. Internat. Bull. Plant Prot. **5**, 202 bis 205, Ref. Rev. Appl. Myc. **11**, 222, 1932.

Noll, W., 1939. Untersuchungen über Fuß- und Welkekrankheiten bei Leguminosen. Zeitschr. Pflanzenkrankh. **49**, 385—431.

Padwick, G. W., 1938. Complex fungal rotting of pea seeds. Ann. Appl. Biol. **25**, 100—114.

van Poeteren, N., 1930. Verslag over de werkzamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1929. Versl. en Meded. Plantenziektenkund. Dienst te Wageningen **62**, 142 S. Ref. Rev. Appl. Mycol. **10**, 293—294, 1931.

Rademacher, B., 1934. Gründüngung und Zwischenfruchtbau als Pflanzenschutz. Mitt. f. d. Ldw. **49**, 635—637.

Reinking, O. A., 1935. Soil and *Fusarium* diseases. Zbl. Bakt. II **91**, 243—255.
Reynolds, E. S., 1926. Nutritional studies on *Fusarium Lini*. Plant Physiology **1**, 151 bis 164. Ref. Bot. Zbl. **11** (153), 421—422, 1928.
Rippel, A., 1939. Mikrobiologie des Bodens. In: Handbuch der Bodenlehre, 1. Ergänzungsband, 440—591, Berlin, Julius Springer.
Rosen, H. R., 1926. Efforts to determine the means by which the cotton-wilt-fungus, *Fusarium* vasinfectum, induces wilting. Jour. Agr. Res. **33**, 1143—1162.
Schaede, R., 1948. Die pflanzlichen Symbiosen, 2. Auflage. Jena, Gustav Fischer.
Schanderl, H., 1947. Botanische Bakteriologie und Stickstoffhaushalt der Pflanzen auf neuer Grundlage. Stuttgart, Eugen Ulmer.
Schroeder, W. T. and Walker, J. C., 1942. Influence of controlled environment and nutrition on the resistance of garden pea to *Fusarium* wilt. Jour. Agr. Res. **65**, 221—248.
Slykhuis, J. T., 1947. Studies on *Fusarium culmorum* blight of crested wheat and brome grass seedlings. Can. Jour. Res. Sect. C Bot. Sci. **25**, 155—180.
Snyder, W. C., 1935. St. John's disease of peas in Europe. Zbl. Bakt. II **91**, 449—459.
Steinberg, R. A., 1947 a. Growth responses to organic compounds by tobacco seedlings in aseptic culture. Jour. Agr. Res. **75**, 81—92.
Steinberg, R. A., 1947 b. Growth responses of tobacco seedlings in aseptic culture to diffusates of some common soil bacteria. Jour. Agr. Res. **75**, 199—206.
Stille, B., 1938. Untersuchungen über die Bedeutung der Rhizosphäre. Archiv f. Mikrobiol. **9**, 477—485.
Stille, B., 1950. Eine mikrobiologische Methode zum Nachweis von Samen- und Wurzelausscheidungen. Archiv f. Mikrobiol. **15**, 149—151.
Stubbs, L. L., 1942. *Ascochyta* blight of field and garden peas, I. Jour. Dept. Agric. Victoria **40**, 260—262. Ref. Biol. Abstr. **17**, 10263, 1943.
Timonin, M. I., 1940 a. The interaction of higher plants and soil micro-organisms, I. Microbial population of rhizosphere of seedlings of certain cultivated plants. Can. Jour. Res. Sect. C Bot. Sci. **18**, 307—317. Ref. Biol. Abstr. **15**, 957, 1941.
Timonin, M. I., 1940 b. The interaction of higher plants and soil microorganisms, II. Study of the microbial population of the rhizosphere in relation to resistance of plants to soil-borne diseases. Can. Jour. Res. Sect. C Bot. Sci. **18**, 444—456. Ref. Biol. Abstr. **15**, 957, 1941.
Tu, C., 1929. Physiologic specialization in *Fusarium* spp. causing headblight of small grains. Phytopathology **19**, 143—154.
Virgin, W. J. und Walker, J. C., 1940. Relation of the near-wilt fungus to the pea plant. Jour. Agr. Res. **60**, 241—248.
Wakefield, E. M. und Moore, W. C., 1936. Notes on certain changes in nomenclature in the second edition of the list of common names of British plant diseases. Trans. Brit. Mycol. Soc. **20**, 97—109. Ref. Rev. Appl. Mycol. **15**, 467—468, 1936.
Waksman, S. A., 1927. Methoden der mikrobiologischen Bodenforschung. In: Abderhalden, Handb. der biol. Arb.-Meth., Teil III, Heft 4—6, S. 715—864. Berlin, Urban & Schwarzenberg.
Walker, J. C. und Synder, W. C., 1933. Pea wilt and root rots. Wisc. Agr. Exp. Sta. Bull. **424**, 16 S.
Went, J. C., 1934. *Fusarium*-aantastingen van erwten. Diss., Univ. Utrecht, 83 S. Ref. Rev. Appl. Mycol. **13**, 612—613, 1934.
West, P. M. und Lochhead, A. G., 1940. Qualitative studies of soil microorganisms, IV. The rhizosphere in relation to the nutritive requirements of soil bacteria. Can. Jour. Res. Sect. C Bot. Sci. **18**, 129—135. Ref. Biol. Abstr. **14**. 12413, 1940.
White, R. P., Studies on tomato wilt caused by *Fusarium lycopersici* Sacc. Jour. Agr. Res. **34**, 197—239.
Winter, A. G., 1939. Untersuchungen über den Einfluß biotischer Faktoren auf die Infektion des Weizens durch *Ophiobolus graminis*. Ztschr. Pflanzenkrankh. **50**, 113—134.
Winter, A. G., 1942. Der Einfluß partieller Sterilisation des Bodens auf die Entwicklung der Laufhyphen von *Ophiobolus graminis*. Phytopath. Ztschr. **14**, 204—302.
Winter, A. G., 1950 a. Untersuchungen über die Ökologie und den Massenwechsel bodenbewohnender mikroskopischer Pilze, I. Die Bedeutung organischer Nährstoffe für die Ent-

wicklung von *Ophiobolus graminis* in der Rhizosphäre und im freien Boden. Archiv f. Mikrobiologie **15**, 42—71.

Winter, A. G., 1950 b. Neue Gesichtspunkte in der Bodenmikrobiologie. Zbl. Bakt. I, **155**, 342—351.

Winter, A. G. und von Rümker, R., 1950. Die Mikroflora der Rhizosphäre als resistenzbestimmender Faktor. Archiv f. Mikrobiol. **15**, 72—84.

Wollenweber, H. W. und Reinking, O. A., 1935. Die Fusarien. Berlin, Paul Parey.

Die Untersuchungen und die Zusammenstellung der vorliegenden Arbeit wurden am Institut für Pflanzenkrankheiten der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn durchgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. A. G. Winter, für die Anregung zu dieser Arbeit und für das rege Interesse, das er ihrem Fortgang entgegenbrachte, auch an dieser Stelle herzlich zu danken.

Herr Prof. Dr. E. Schaffnit und Herr Prof. Dr. H. Blunck haben die Durchführung des ersten Teiles meiner Versuche wohlwollend gefördert. Ich bin Herrn Prof. Dr. H. Braun zu besonderem Dank verpflichtet für die gütige Unterstützung, die er mir stets hat zuteil werden lassen. Herrn Dr. B. Stille danke ich für anregende Ratschläge und Hinweise, und Fräulein Hildegard Schneiders und Frau Inge Beseler für ihre wertvolle Hilfe bei Anfertigung der Abbildungen, Tabellen und graphischen Darstellungen.

Die Saatzuchtwirtschaft O. Beseler Nachf. A. Lohmann K.-G., Klostergut Weende bei Göttingen, hat mir freundlicherweise mehrfach Saatgut zur Verfügung gestellt.

Eidgenössische Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil
Direktor Prof. Dr. F. Kobel

Beiträge zur Kenntnis der Erysiphaceen

2. Mitteilung [1])

Von

S. Blumer

Mit 3 Abbildungen

Eingegangen am 27. Dezember 1950

Die vor 5 Jahren erschienene Arbeit von C. Hammarlund (6) über die Spezialisation seiner *Erysiphe polyphaga* ist für die Mehltauforschung und für die Praxis von so großer Bedeutung, daß man sich mit diesen überraschenden Ergebnissen auseinandersetzen muß. Es sollen deshalb in dieser Mitteilung einige Versuche mit dieser plurivoren Art besprochen werden. Zugleich benutze ich die Gelegenheit, um auf einige interessante Neufunde aufmerksam zu machen. Ich danke den Herren Prof. Dr. E. Gäumann und Dr. Ch. Terrier bestens für die Überweisung von Material. Ferner möchte ich meinen Mitarbeitern A. Harder und J. Kundert für ihre Mithilfe bei den Versuchen und für die Durchführung der Konidienmessungen meinen Dank aussprechen.

1. Über *Erysiphe polyphaga* Hammarlund

a) Infektionsversuche

Im Herbst 1950 trat an unserer Versuchsanstalt ein *Oidium* auf *Helianthus annuus* L. auf. Dieser Mehltau wurde schon von H. Bouwens (5) in Holland, von V. Škorić (11) in Jugoslawien und von Eug. Mayor (8) in der Schweiz beobachtet. Reed (9) hatte schon früher nachgewiesen, daß die auf Cucurbitaceen vorkommende Form der *Erysiphe cichoracearum* DC. em. Salm. auch auf *Helianthus annuus* übergeht. Da die ersten Infektionen bei uns an Pflanzen auftraten, die in der Nähe von befallenen Gurken standen, erschien uns der Befall von *Helianthus* zum vornherein als eine Bestätigung der Ergebnisse von Reed, und eine Nachprüfung ergab denn auch, daß das *Oidium* tatsächlich mit Leichtigkeit auf *Cucumis sativus* L. übertragen werden konnte. Umgekehrt ging der in unsern Gewächshäusern häufige Gurkenmehltau auf *Helianthus annuus* über, womit die Ergebnisse von Reed bestätigt wurden.

Nach den Versuchen von Hammarlund (6) befällt die plurivore *Erysiphe polyphaga* neben zahlreichen andern Nährpflanzen auch *Cucumis sativus*. Wir führten nun mit unserm Gurkenmehltau am 6. und 25. November 1950 Infektionsversuche durch, deren Ergebnisse in Tabelle 1 zusammengestellt sind. Die meisten der von uns verwendeten Versuchspflanzen wurden schon von Hammarlund geprüft. Seine Infektionsresultate sind jeweilen in Klammer beigefügt.

---

[1]) 1. Mitteilung vgl. Berichte der schweiz. botanischen Gesellschaft **58**, 61—68, 1948.

Tabelle 1

Ergebnisse der Infektionsversuche mit dem *Oidium* auf *Cucumis sativus*

Versuchspflanze	Ergebnis	Bemerkungen
Hydrangea macrophylla (Thunb.) DC.	+ (−)	Sehr schwache Infektionen an einem Blatte (Subinfektion)
Erica gracilis Salisb.	+ (+)	Ziemlich starke Infektion, die aber später wieder verschwand
Valerianella olitoria (L.) Moench	+ (+)	Infektion sehr stark
Viola tricolor maxima hort.	+ (+)	Mittelstarke Infektion
Helianthus annuus L.	+	" "
Matricaria Chamomilla L.	+ (+)	Starke Infektion
Solanum lycopersicum	− (+)	
Kalanchoë blossfeldiana Poelln.	+ (+)	Schwache Infektion
Echeveria sp.	− (+)	
Begonia (Lorraine)	− (+)	
Cineraria hybrida hort.	− (−)	

Es zeigte sich in diesen Versuchen eine so weitgehende Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Hammarlund, daß wir unser Ausgangsmaterial, das *Oidium* auf *Cucumis sativus* ohne weiteres zu *Erysiphe polyphaga* stellen dürfen. Die geringen Abweichungen sind vielleicht auf die verwendeten Sorten zurückzuführen. Es scheint also, daß unser verbreiteter Gurkenmehltau zu *Erysiphe polyphaga* gehört. Vermutlich hat schon Reed (9) seine Infektionsversuche mit dieser Art durchgeführt.

Wichtig scheint uns die Tatsache, daß die Infektionen auf den einzelnen Versuchspflanzen von sehr verschiedener Intensität waren. Auf *Kalanchoë* und besonders auf *Hydrangea* beobachteten wir nur sehr schwache Infektionen an einem Blatte. Auf *Erica gracilis* waren die Mehltaurasen zuerst ziemlich gut entwickelt, doch verschwanden sie nach etwa 3 Wochen vollständig[1]). Die Infektion erfolgt hier also leicht und regelmäßig (alle 6 Versuchspflanzen wurden befallen), doch kann sich der Pilz auf dieser Nährpflanze nicht halten. Unter unseren Versuchsbedingungen wurde also kein stabiles parasitisches Verhältnis erreicht. Wir schließen aus der verschiedenen Stärke des Befalls, daß *Erysiphe polyphaga* auf verschiedenen Haupt- und Nebenwirten vorkommt. Kurz vor Beginn unserer Versuche beobachteten wir auf den infizierten Gurken Perithecien, die sicher zur Sammelart *Erysiphe cichoracearum* gehörten.

b) Konidienmessungen

Daß bei den Erysiphaceen bedeutende Unterschiede in der Konidiengröße vorkommen, wird heute wohl allgemein anerkannt. Ebenso steht fest, daß diese Unterschiede nicht rein zufällig auftreten. Dagegen sind die Ansichten über die Ursache dieser Verschiedenheiten auch heute noch geteilt. Sie können auf die allgemeinen Umweltsbedingungen (Standortsmodifikationen), auf einen direkten Einfluß der Nährpflanze (Matrikalmodifikationen), oder endlich auf genotypische Unterschiede zwischen den einzelnen Kleinarten einer morphologischen Spezies zurückgeführt werden.

Daß sich ökologische Faktoren in der Größe der Konidien auswirken können, erscheint selbstverständlich. Die gleiche Kleinart wird auf derselben

[1]) In einem weiteren Versuch blieb der Befall monatelang in gleicher Stärke erhalten.

Nährpflanze an verschiedenen Standorten nicht genau die gleiche Größe aufweisen. Aus diesem Grunde wird die Variabilität der Konidiengröße bedeutend erhöht, und ein zuverlässiger Mittelwert sollte immer auf Material von verschiedenen Standorten begründet sein. Der statistische Vergleich von zwei Mittelwerten kann sich deshalb nicht auf den mittleren Fehler stützen. Ich habe (Blumer [3]) vorgeschlagen, in diesen Fällen die Standardabweichung zu verwenden. Immerhin ergibt sich aus der relativ bedeutenden Konstanz der Konidiengröße, daß der Einfluß der Standortsmodifikationen nicht überschätzt werden darf. Bouwens (5) gelangte zum Ergebnis, daß Matrikal- und Standortsmodifikationen nur kleine Größenunterschiede verursachen, daß aber die großen Unterschiede als eine Aufspaltung in morphologische Rassen aufzufassen seien. Diese Auffassung hat sich in der Rostpilzforschung längst Bahn gebrochen.

Bei *Erysiphe horridula* Lév. fand ich seinerzeit (1) eine Form mit Konidien von 30—31 μ Länge auf *Symphytum officinale* und eine etwas kleinere Form mit Konidien von 26—28 μ Länge auf *Echium*. Beide Formen gehen auf den Sammelwirt *Cerinthe major* über. Nach drei Überimpfungen auf dieser Nährpflanze blieben die ursprünglichen Größenunterschiede noch erhalten. Es können auf einem Sammelwirt also gleichzeitig verschiedene morphologische Rassen des Pilzes nebeneinander vorkommen. In diesem Falle war die Konidiengröße also sicher nicht als Matrikalmodifikation, sondern als ein genetisch bedingtes Merkmal von zwei Formen des Pilzes aufzufassen.

Hammarlund (6) dagegen betrachtet die Größe der Konidien als Matrikalmodifikation. Innerhalb seiner *Erysiphe polyphaga* kann man nach seiner vorläufigen Mitteilung erhebliche Schwankungen der Konidienlänge feststellen. Sie verhielt sich auf *Chrysanthemum indicum*, *Veronica speciosa* und *Solanum tuberosum* wie 9 : 6 : 5.

Aus unseren Infektionsversuchen stand uns ziemlich reichliches Material zur erneuten Prüfung dieser Fragen zur Verfügung. Zunächst geht aus Tabelle 2 hervor, daß das *Oidium* auf *Cucumis sativus*, das vermutlich zu *Erysiphe polyphaga* gehört, eine bemerkenswerte Konstanz der Konidienlänge aufweist.

Tabelle 2

Größe der Konidien von *Erysiphe polyphaga* Hamm. auf *Cucumis sativus* L.

Messungen von	n	Länge μ	Breite μ	L./Br.	Bemerkungen
Blumer 1922	250	27,97	14,57	1,90	Herbarmaterial in Milchsäure
Bouwens 1924 . . .	500	30,19	17,99	1,68	Mittelwert aus 5 verschiedenen Serien
Kundert 1950	100	30,2	17,5	1,72	
Kundert 1950	200	27,74	14,95	1,85	

Die beiden letzten Serien dieser Tabelle stammen vom Ausgangsmaterial für unsere Infektionsversuche. Es zeigt sich hier, daß Schwankungen des Mittelwertes 2,5 μ für die Länge noch als Modifikation betrachtet werden

müssen. Wir können deshalb an Stelle dieser beiden Serien für unser Ausgangsmaterial den Mittelwert von 28,6 μ für die Länge und von 15,8 μ für die Breite annehmen (Koeffizient L./Br. = 1,81). Die Standardabweichung beträgt für die Länge $\pm$ 2,4 μ, die typischen Werte liegen also zwischen 26,2—31 μ. Der Mittelwert aus meinen früheren Messungen (Herbarmaterial), sowie der Mittelwert aus den Messungen von H. Bouwens liegen also innerhalb der Standardabweichung des Ausgangsmaterials für unsere Versuche. Die Mittelwerte der 5 Einzelserien von H. Bouwens variieren von 29,29—31,38 μ. Sie überschreiten die Standardabweichung unseres Materials nur in einem Falle unbedeutend. Schließlich kann noch erwähnt werden, daß auch die von mir (2) und H. Bouwens (5) durchgeführten Messungen von Konidien des *Oidiums* auf *Cucumis Melo* L. und *Cucurbita Pepo* L., die vermutlich ebenfalls zu *Erysiphe polyphaga* gehören, sehr gut mit unsern letzten Messungen übereinstimmen. Für die Breite der Konidien sind die Schwankungen relativ größer, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß der momentane Quellungszustand hier störend einwirkt.

Anfangs November 1950 wurden die ersten Infektionsversuche mit dem *Oidium* auf *Cucumis sativus* durchgeführt. Nach 2 Wochen wurde von jeder befallenen Pflanze eine erste Serie von 100 Konidien gemessen (Tabelle 3, obere Zahl). Eine zweite Messung auf den gleichen Pflanzen wurde einen Monat später durchgeführt (untere Zahl). Nur für *Erica gracilis* war diese Wiederholung nicht möglich, weil auf dieser Pflanze zur Zeit der zweiten Messung überhaupt keine Infektionen mehr sichtbar waren. Hier bezieht sich die untere Zahl auf Material aus einem zweiten Infektionsversuch. Schließlich enthält die Tabelle 3 noch den Mittelwert aus den beiden Messungen.

Tabelle 3
Konidiengröße auf verschiedenen Nährpflanzen

Nährpflanze	Länge μ		Breite μ		L./Br.	
Ausgangsmaterial auf *Cucumis sativus* L.		28,6		15,8		1,81
Erica gracilis Salisb.	27,6 29,4	28,5	14,9 15,3	15,1	1,85 1,92	1,89
Viola tricolor maxima hort.	27,8 29,4	28,6	14,4 16,0	15,2	1,93 1,84	1,89
Valerianella olitoria (L.) Moench	28,2 31,8	30,0	14,0 16,0	15,2	1,96 1,99	1,98
Matricaria Chamomilla L.	27,6 28,0	27,8	14,1 14,7	14,4	1,96 1,90	1,93
Helianthus annuus L.	— 29,8		— 17,1		— 1,74	

Die Übereinstimmung der Konidienlänge auf den verschiedenen Nährpflanzen unter sich und mit dem Ausgangsmaterial ist auffallend gut, was wohl dadurch bedingt ist, daß alle Pflanzen im Gewächshaus unter gleichen Bedingungen standen. Die stärksten Abweichungen zeigt *Helianthus annuus* im Mittelwert für die Breite. Dies mag darauf zurückzuführen sein, daß diese

Serie aus einem Vorversuch stammt, der ungefähr einen Monat früher durchgeführt wurde. Es sei hier noch erwähnt, daß die von H. Bouwens (5) ermittelten Werte für das *Oidium* auf *Helianthus annuus* (Länge 31,21 μ, Breite 18,26 μ, L./Br. 1,71), wenigstens für die Länge sehr gut mit unsern Messungen übereinstimmen.

In der Länge zeigten die Konidien auf *Valerianella* die größte Abweichung gegenüber dem Ausgangsmaterial. Für diese Serie liegen die typischen Werte zwischen 28,2—35,4 μ gegenüber 26,2—31,0 μ beim Ausgangsmaterial. Die Standardabweichungen dieser beiden Serien decken sich also fast zur Hälfte, so daß wir auch in diesem Falle nicht von einer gesicherten Differenz und nicht von einer Matrikalmodifikation sprechen können.

Das *Oidium* auf *Matricaria Chamomilla* trat in den Gärten von Wädenswil auch spontan auf. Eine Probe dieses Materials aus dem Herbar (in Milchsäure erwärmt) ergab einen Mittelwert von 31,6 μ für die Länge und 13,2 μ für die Breite (L./Br. = 2,39). Gleich vorbehandelte Konidien aus den Infektionsversuchen lieferten einen Durchschnittswert von 27,4 μ für die Länge und 13,8 μ für die Breite (L./Br. = 2,0). Unter der Voraussetzung, daß es sich auch bei der Spontaninfektion um ein zu *Erysiphe polyphaga* gehörendes *Oidium* handelt, müßte der Unterschied von 4,1 μ für die Länge hier als Standortsmodifikation bezeichnet werden. Diese Differenz liegt aber noch im Bereich der Standardabweichung, obschon sie größer ist als der Unterschied zwischen den Konidien auf *Cucumis sativus* (Ausgangsmaterial) und der am stärksten abweichenden Serie auf *Valerianella,* der eventuell als Matrikalmodifikation bezeichnet werden könnte. Bis jetzt ergaben unsere Messungen keine sichern Anhaltspunkte für das Vorkommen von Matrikalmodifikationen im Sinne von Hammarlund.

c) Beobachtungen am *Oidium ericinum* Eriks.

Nach Hammarlund gehört der *Erica*-Mehltau, *Oidium ericinum* Eriks. zu *Erysiphe polyphaga* Hamm. Nach unsern Versuchen geht der Gurkenmehltau, der ebenfalls zu dieser Art gehört, auf *Erica* über. Allerdings konnten wir auf dieser Nährpflanze nie den starken Befall beobachten, den wir vom *Oidium ericinum* her kennen. In einem Versuch mit *Erysiphe polyphaga* gingen die Infektionen auf *Erica* bald zurück und verschwanden etwa 3 Wochen nach der Infektion ganz. Wir kamen daher zum Eindruck, daß *Erica gracilis* nur ein mehr oder weniger resistenter Nebenwirt der *Erysiphe polyphaga* sei. Das bei uns verbreitete *Oidium ericinum* dagegen tritt viel stärker auf (Abb. 1); es verursacht starken Blattfall und geht sogar auf die Blütenblätter über. Es stellte sich deshalb die Frage, ob der von *Cucumis* auf *Erica* übertragene Pilz überhaupt mit dem *Oidium ericinum* identisch ist. Leider war es uns nicht möglich, mit beiden Formen Infektionsversuche durchzuführen, weil das *Oidium ericinum* diesen Herbst nicht auftrat. Wir waren daher gezwungen, uns auf einen morphologischen Vergleich zu beschränken.

In Abb. 2 wird die Konidienlänge des Gurkenmehltaus mit dem *Oidium ericinum* verglichen. Alle 3 Serien wurden auf 100 Messungen reduziert, um sie vergleichbar zu machen. Polygon 1 bezieht sich auf das Ausgangs-

material für unsere Infektionsversuche auf *Cucumis sativus* (Tabelle 2), das also vermutlich zu *Erysiphe polyphaga* zu stellen ist. In Polygon 2 ist die Konidienlänge des gleichen Pilzes auf *Erica gracilis* dargestellt (Tabelle 3). Der Unterschied zwischen Polygon 1 und 2 ist gering und liegt sicher innerhalb der Fehlergrenze. Dagegen zeigt das eigentliche *Oidium ericinum*, von dem uns für die Messungen nur Herbarmaterial aus dem Jahre 1947 zur Verfügung stand, stark abweichende Konidienmasse (Polygon 3). Wir erhielten folgende Mittelwerte:

Länge 40,1 μ, Breite 13,7 μ, L./Br. 2,92.

Abb. 1
Oidium ericinum Eriks. auf *Erica gracilis* Salisb.

Die Konidien dieser Form sind also bedeutend größer als diejenigen der *Erysiphe polyphaga* auf *Cucumis* und *Erica*. Die Unterschiede sind so bedeutend, daß sich die Standardabweichungen nicht mehr überdecken. Nach der starken Streuung und der Andeutung eines zweiten Gipfels besteht die Möglichkeit, daß in Polygon 3 zwei morphologisch verschiedene Formen enthalten sind.

Wir können uns nicht vorstellen, daß der große Unterschied in der Konidienlänge als Matrikalmodifikation aufgefaßt werden darf. Wäre dies der Fall, so müßte auch das Polygon 2 gegenüber dem Gurkenmehltau (1) eine Andeutung dieses Wirtseinflusses zeigen, was jedoch nicht der Fall ist. Ebenso ist kaum anzunehmen, daß der große Unterschied als Standortsmodifikation zu bewerten wäre. Das Material für alle drei Polygone stammt aus dem gleichen Gewächshaus, allerdings nicht aus dem gleichen Jahr.

Nach unserer Auffassung kommen auf *Erica gracilis* mindestens zwei verschiedene Oidien vor, nämlich *Erysiphe polyphaga* (Polygon 2) und das

Oidium ericinum Eriks. (Polygon 3). Diese letztere Art muß also noch weiter bestehen bleiben, bis wir wissen, wohin sie gehört.

Man kann sich wohl fragen, ob nicht bei anderen Oidien auf Zierpflanzen ähnliche Verhältnisse bestehen wie bei *Erica*. So konnten wir in unsern Versuchen auf *Hydrangea* mit der von *Cucumis sativus* stammenden *Erysiphe polyphaga* wenigstens deutliche Subinfektionen erzielen. Es wäre aber sicher verfrüht, zu behaupten, daß das *Oidium hydrangeae* Jørst. nun ebenfalls zu *Ery-*

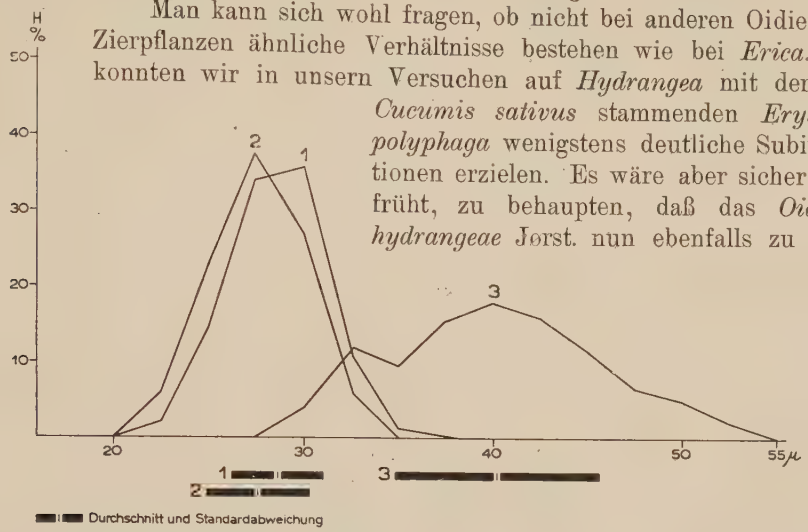


Abb. 2. Länge der Konidien (prozentuale Häufigkeit) für das *Oidium* auf *Cucumis sativus* (1) auf *Erica*, von Gurke übertragen (2) und für das *Oidium ericinum* Eriks. (3)

Abb. 3. *Oidium ericinum* Eriks. auf *Calluna vulgaris* (L.) Hull.

siphe polyphaga gehöre. Die Hortensie kann wie *Erica gracilis* ein Sammelwirt für verschiedene Mehltau-Arten sein. Mit der Methode der Konidienmessung sind wir in der Lage, wenigstens die morphologisch stark abweichenden Formen auseinanderzuhalten. Eine vollständige Klärung dieser Verhältnisse kann nur durch Kombination von Infektionsversuchen und Konidienmessungen erfolgen.

Es mag hier noch beigefügt werden, daß mein Mitarbeiter A. Harder die Form mit großen Konidien, die wir vorläufig als *Oidium ericinum* Eriks. bezeichnen, auf *Calluna vulgaris* (L.) Hull. übertragen konnte. Bei dieser Pflanze werden hauptsächlich die zarten Blättchen der Triebspitzen befallen (Abb. 3). Auf *Calluna* scheint bis jetzt noch kein Mehltau bekannt zu sein.

2. Neue oder seltene Nährpflanzen von Erysiphaceen

(Die mit * bezeichneten Nährpflanzen sind neu für die Schweiz)

Podosphaera leucotricha (Ellis et Everh.) Salm., *Oidium* auf **Malus floribunda* Sieb. (Hof der Versuchsanstalt Wädenswil, 14. August 1950).

Obwohl keine Perithecien gefunden wurden, kann es sich nach der Art des Befalls und nach der Größe der Konidien (Mittelwert 22,5/11,2 μ) nur um den Apfelmehltau handeln. Dieser Pilz tritt in den letzten Jahren bei uns immer stärker auf und geht nun auch auf Sorten über, die bisher als resistent galten (z. B. Glockenapfel).

Podosphaera myrtillina (Schub.) Kze. et Schm. auf *Vaccinium Myrtillus* L. (Kreuel-Alp, Engi, Glarus, 17. September 1950). — Der Standort auf 1700 m Meereshöhe ist bemerkenswert, weil der Pilz bis jetzt nur im Mittelland und in den Voralpen gefunden wurde.

Sphaerotheca fuliginea (Schlecht.) Salm.

Auf **Rhinanthus alectorolophus* (Scop.) Pollich (Caux s. Montreux, 27. August 1950, leg. Ch. Terrier).

Auf *Pedicularis foliosa* L. (Caux s. Montreux, 4. September 1950, leg. Ch. Terrier).

Auf *Scrophularia canina* L. (vel Hoppei Koch) (Italia, Prov. Trento: Val Ampola, 25. September 1950, leg. E. Gäumann et Ch. Terrier).

Auf *Erigeron canadensis* L. Mit Perithecien (Dorénaz-Alesses, Valais, 22. Oktober 1950, leg. Ch. Terrier).

Erysiphe artemisiae (Wallr.) Grev. auf **Artemisia Verlotorum* Lam. (Pully, 25. September 1948, Chailly, Vaud, 16. Oktober 1949, leg. Ch. Terrier).

Erysiphe aquilegiae DC. auf *Aquilegia thalictrifolia* (Italia, Prov. Trento: Val Ampola, 25. September 1950, leg. E. Gäumann und Ch. Terrier).

Oidium (vermutlich *Microsphaera alphitoides* Griff et Maubl.) auf *Castanea sativa* Miller (Chailly, Vaud 30. Oktober 1949, leg. Ch. Terrier).

Oidium sp. auf *Corydalis lutea* (L.) Lam. et DC. (Italia, Prov. Trento: Val Ampola, 25. September 1950, leg. E. Gäumann et Ch. Terrier).

Aus der Familie der Papaveraceen sind bisher nur einige *Papaver*-Arten als Nährpflanzen der *Erysiphe communis* (Wallr.) Lk. bekannt. Ob das *Oidium* auf *Corydalis lutea* zu dieser Art gehört, ist nicht sicher. Diese Form zeichnet sich durch sehr schmale Konidien aus, die fast dreimal länger

als breit sind. In der Sammelart *Erysiphe communis* sind bis jetzt keine so schlanken Konidien bekannt (Blumer 3). Für die Form auf *Corydalis lutea* erhielt J. Kundert folgende Werte aus 200 Messungen:

Länge: 27—50 μ, Mittel 34,5 μ, typische Werte[1]) 30,6—38,4 μ
Breite: 10—15 μ, „ 12,0 μ, „ „ 10,6—13,4 μ

Sehr schmale Konidien kommen nach H. Bouwens (5) auch auf *Brassica Rapa* vor, doch sind diese bedeutend länger als bei der Form auf *Corydalis lutea*, die mehr an *Erysiphe umbelliferarum* erinnert.

Phyllactinia suffulta (Rebent.) Sacc. auf **Asclepias syriaca* L. (Von A. Harder im September 1950 in 6 Gärten der Gemeinden Wädenswil und Richterswil gefunden).

Der Pilz scheint ziemlich häufig aufzutreten, wurde aber bisher offenbar übersehen. J. Kundert führte an diesem Material 190 Messungen durch. Der Durchmesser der Perithecien schwankte von 123—231 μ. Der Durchschnitt aus 4 Proben liegt bei 178 μ. Die Zahl der Anhängsel beträgt 6—11, ihre Länge ist das Doppelte des Durchmessers. Zahl der Asci 11—25, Länge 65—75 μ, Breite 27—35 μ; Zahl der Sporen 2, sehr selten 3; Länge der Sporen 30—37 μ, Breite 17—20 μ.

Die Form auf *Asclepias* läßt sich also zwanglos in die Sammelart *Phyllactinia suffulta* einordnen und gehört dort zu den kleinsten Formen (ungefähr wie diejenige auf *Cornus mas*).

Ph. suffulta wird von verschiedenen Autoren (Oudemans, Bancaud, Jaczewski) auf *Asclepias syriaca* angeführt, aber ohne Angabe der Fundorte. Wahrscheinlich gehen diese Angaben auf die Monographie von Salmon (10) zurück, nach der *Phyllactinia* auf *Asclepias syriaca* von Peck in Nordamerika gefunden wurde. Homma (7) erwähnt aus Japan eine zu *Phyllactinia* gehörende *Ovulariopsis* auf *Asclepias curassavica* (L.) Towata.

Zusammenfassung

1. Die Angaben von Hammarlund über die Spezialisation der *Erysiphe polyphaga* konnten bestätigt werden.
2. Nach vorläufigen Konidienmessungen sind die beobachteten Unterschiede in der Konidienlänge genetisch bedingt und können nicht als Matrikalmodifikation betrachtet werden.
3. *Oidium ericinum* Eriks. ist nicht identisch mit *Erysiphe polyphaga* Hammarlund. *Erica gracilis* ist ein Sammelwirt für mindestens zwei morphologisch verschiedene Oidien. *Oidium ericinum* unterscheidet sich von der untersuchten Form der *Erysiphe polyphaga* durch längere Konidien und durch eine stärkere Virulenz.
4. Es werden einige neue oder seltene Nährpflanzen von Erysiphaceen aus der Schweiz und aus Italien mitgeteilt.

[1]) Mittelwert ± Standardabweichung.

Summary

1. The results of Hammarlund on the specialization of *Erysiphe polyphaga* could be confirmed.
2. Preliminary measurements of conidia of *Erysiphe polyphaga* showed that the differences in length of conidia on different host-plants must be attributed to genetic factors and not to modifications caused by the specific influence of the host.
3. On *Erica gracilis* there exist at least two different mildews. *Oidium ericinum* Eriks. differs from *Erysiphe polyphaga* by the size and shape of conidia as well as in its greater virulence.
4. Some new or unusual host-plants of Erysiphaceae from Switzerland and Italy are reported.

Literatur

1 Blumer, S., Beiträge zur Spezialisation der *Erysiphe horridula* Lév. auf Borraginaceen. Centralbl. f. Bakt. II., **55**, 480—506, 1922.

2 Blumer, S., Die Formen der *Erysiphe cichoracearum* DC. Centralbl. f. Bakt. II, **57**, 45—60, 1922.

3 Blumer, S., Variationsstatische Untersuchungen an Erysiphaceen. Ann. Mycol. **24**, 179—193, 1926.

4 Blumer, S., Die Erysiphaceen Mitteleuropas. Beiträge z. Krypt.-Fl. d. Schweiz Bd. **VII**, Heft 1. Zürich 1933.

5 Bouwens, H., Untersuchungen über Erysipheen. Mededeel. Phytopath. Laboratorium „Willie Commelin Scholten" **8**, 1—28, 1924.

6 Hammarlund, C., Beiträge zur Revision einiger imperfekten Mehltau-Arten. *Erysiphe polyphaga* nov. sp. Bot. Notiser 1945, p. 101—108.

7 Homma, Y., *Erysiphaceae* of Japan. Jour. Fac. of Agr. Hokkaido Univ. **38**, 183—461, 1937.

8 Mayor, E., Notes Mycologiques XII. Bull. Soc. Neuchâteloise des Sci. Nat. **70**, 33—60, 1947.

9 Reed, G. M., Infection experiments with *Erysiphe cichoracearum* DC. Bull. Univ. Wisconsin **3**, 317—416, 1908.

10 Salmon, E. S., A monograph of the *Erysiphaceae*. Memoirs Torrey Bot. Club, **9**, 1—292, 1900.

11 Škorić, V., *Erysiphaceae Croatiae*. Glasnik za Sumske Pokuse **1**, 52—118, 1926.

Aus dem Institut für Bakteriologie und Serologie der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig-Gliesmarode

Eine neue Infektionsmethode mit *Bacterium michiganense*, dem Erreger der bakteriellen Welkekrankheit der Tomaten

Von

C. Stapp

Mit 1 Abbildung

Die bakterielle Tomatenwelke wird an Freilandpflanzen häufig äußerlich erst dann kenntlich, wenn die ersten Früchte bereits der Reife entgegengehen, zum Teil auch erst, wenn diese schon gereift sind. Das hat vor allem seinen Grund darin, daß der Erreger dieser Krankheit — ein kleines, unbewegliches, grampositives Bakterium — keine unmittelbar toxische Wirkung besitzt, sondern allein durch Behinderung bzw. gänzliche Verstopfung der Wasserleitungsbahnen infolge seiner Vermehrung die Welkeerscheinungen bei der Tomate auslöst. Es handelt sich bei dieser Krankheit demnach wie bei der Bakterienringfäule der Kartoffel, verursacht durch *Bact. sepedonicum*, um eine typische Tracheobakteriose. In ernsten Fällen kommt es auch zur Ausbreitung der Bakterien in die die Gefäße umgebenden Parenchymzellen, die dann zerfallen, wodurch kleinere oder größere Hohlräume im Stengel entstehen. Nur selten ist in Deutschland damit ein Aufplatzen der Stengel in der Längsrichtung verbunden, wie es in den Vereinigten Staaten von Nordamerika von E. F. Smith(5) schon beschrieben ist, der im Jahre 1910(4) erstmalig über diese Krankheit berichtet hat. Ihr Vorkommen in Deutschland ist durch die Untersuchungen von W. Kotte 1929(1) bekannt geworden, der sie 1930(2) noch „örtlich begrenzt" vorfand, während Orth(3) 1937 darauf hinweist, daß die „Bakterienwelke", wie sie Kotte genannt hat, in wenigen Jahren in Deutschland so um sich gegriffen habe, „daß heute der Tomatenbau, der für viele gärtnerische Betriebe einen lebenswichtigen Faktor bildet, stellenweise schwer bedroht ist".

Wenn auch dank der Aufklärung und der empfohlenen Bekämpfungsmaßnahmen in späteren Jahren die Krankheit in ihrer Ausbreitung und Gefährlichkeit stark herabgemindert wurde, so muß ihr dennoch weiterhin große Aufmerksamkeit geschenkt werden.

Der Erreger ist aus krankem Pflanzenmaterial relativ leicht zu isolieren, auf künstlichen Substraten geht seine Virulenz aber allmählich verloren. Während E. F. Smith vermutete, daß er mit *Bact. sepedonicum* identisch sei, konnte von von mir(6,7) nachgewiesen werden, daß er zwar mit diesem Kartoffelringfäule-Erreger sehr viel Ähnlichkeit hat, mit letzterem aber keine Identität besteht.

Wird die Prüfung der Stämme von *Bact. michiganense* auf ihre Virulenz in der sonst üblichen Weise vorgenommen, indem man junge, in Töpfen im Gewächshaus herangezogene Tomatenpflanzen am Stengel durch Nadelstiche oder noch besser feine, schräge Schnitte mit einem Skalpell verletzt, wobei möglichst mindestens ein Leitbündelstrang getroffen werden sollte und die Wunden mit einer Reinkultur von *Bact. michiganense* infiziert, so dauert es nicht selten 4—6 Wochen, oder falls es sich um schwach virulente Stämme handelt, auch noch länger, ehe sich durch Welkeerscheinungen an den Blättern der erste Erfolg einer Impfung erkennen läßt. Nur wenn ein Leitbündelstrang unterhalb eines Blattes getroffen

wird, können Welkeerscheinungen an diesem Blatt auch früher auftreten[1]). Es spielt aber mehr oder weniger der Zufall dabei eine Rolle.

Um diese Zeitspanne der „Inkubation" abzukürzen und doch einwandfreie, wirklich vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, mußte ein anderes Infektionsverfahren ausgearbeitet werden, das nicht nur die sichere Feststellung von Virulenzunterschieden der bakteriellen Erreger gewährleistete, sondern gleichzeitig auch eine geeignete Möglichkeit bot, die verschiedenen Tomatensorten auf ihre unterschiedliche Anfälligkeit bzw. Resistenz zu prüfen.

Die früher bereits bekanntgegebenen Methoden zur Resistenzprüfung von Tabaksorten gegenüber dem Erreger des Wildfeuers, *Pseudomonas tabaci*(8) oder von Bohnen gegenüber dem Erreger der Fettfleckenkrankheit, *Pseudomonas medicaginis* var. *phaseolicola* (9), kamen hierfür nicht in Frage, weil sie zur Voraussetzung haben, daß der jeweilige Erreger Eigenbewegung besitzt und in unverletztes Pflanzengewebe einzudringen vermag. Im letzteren Falle werden die jungen Keimpflanzen mit ihren Kotyledonen und den eben entstehenden Primordialblättern in eine entsprechende wäßrige Suspension der Bakterien eine Stunde lang eingelegt, wobei die Wurzeln über dem Schalenrand liegen und nicht benetzt werden.

Bei den Tomatenpflanzen wurde nunmehr umgekehrt verfahren. Die jungen, etwa 12—13 cm hohen Sämlinge, die in einem lockeren Sand-Komposterde-Torf-Gemisch im Gewächshaus in Töpfen herangezogen worden waren, wurden herausgenommen, ihre Wurzeln wurden kurz in Wasser abgespült, dann wurde die Hälfte dieser Würzelchen um etwa 1—2 cm mit einem sauberen Messer zurückgeschnitten und diese so behandelten Pflanzen sofort mit dem gesamten Wurzelwerk in einer wäßrigen Aufschwemmung von *Bact. michiganense* etwa eine Stunde lang getaucht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die Suspension wurde hergestellt, indem 6 jeweils 3 Tage alte Bouillon-Schrägagarkulturen mit insgesamt 40 ccm Wasser abgespült wurden. Dann wurden die Pflanzen aus dem Bad herausgenommen und anschließend in neue Töpfe eingepflanzt. Es gelingt dabei mühelos, gleichzeitig etwa 50—100 Pflanzen im gleichen Bad zu infizieren. Die Kontrollen werden in derselben Weise vorbehandelt, nur wird zum Tauchen reines Wasser an Stelle der Bakteriensuspension verwandt.

Sollen verschiedene Stämme überprüft werden, so ist selbstverständlich von jedem Stamm gesondert eine wäßrige Suspension anzulegen. Die ersten Welkeerscheinungen treten — hochvirulente Stämme vorausgesetzt — nach 8—10 Tagen auf, bei schwächeren je nach Virulenzgrad nach 14 Tagen bis 3 Wochen.

Die Methode ist selbst in den Herbstmonaten durchführbar, wie ein Ausschnitt aus einem Versuch zeigt, bei dem die Pflanzen am 25. November 1949 getaucht worden waren. Am 1. Dezember waren noch keine Symptome erkennbar. Am 5. Dezember zeigten bei den mit Stamm T 3 infizierten Pflanzen einige die ersten Welkeerscheinungen an einzelnen Spitzenblättchen, am 18. Dezember waren diese T 3-Pflanzen bereits völlig welk, während die mit dem etwas geringer virulenten Stamm T 2 infizierten auch am 21. Dezember noch vereinzelt voll turgeszente Blätter aufwiesen, der größte Teil derselben hing aber verwelkt an den Blattstielen (vgl. Abb. 1). Die Infektion mit einem dritten, nur schwach virulenten Stamm (T 1) hatte zu dieser Zeit erst auf 2, höchstens 3 Blätter übergegriffen.

Es läßt sich somit der unterschiedliche Virulenzgrad der einzelnen Erregerstämme gut bestimmen, nur muß beachtet werden, daß die Sämlingspflanzen zur Zeit der Tauchung etwa gleiche Größe und gleiche Wurzelentwicklung haben. Die Ergebnisse sind um so gesicherter, je größer die Anzahl der Pflanzen jeder ein-

[1]) Die kürzeste bisher von mir beobachtete Infektionsdauer betrug unter optimalen Bedingungen 4—6 Tage.

zelnen Versuchsreihe gewählt wird. Das gilt entsprechend auch für die Prüfung der verschiedenen Tomatensorten auf ihre Resistenz gegenüber diesem Krankheitserreger.

Wegen der unbedingten Zuverlässigkeit des Infektionsverfahrens wurde auch ein erneuter Versuch angesetzt, junge Tomatenpflanzen mit *Bact. sepedonicum* zu infizieren. An Stämmen dieses Kartoffelringfäule-Erregers standen 2 aus der Sammlung und 2 im Jahre 1949 aus USA bezogene hierfür zur Verfügung. Die einzelnen Serien wurden am 18. Februar 1950 ebenfalls je eine Stunde getaucht. Bis zum 20. Juni 1950 blieben die so behandelten Tomatenpflanzen im Gewächshaus unter Beobachtung, und bei keiner einzigen Pflanze trat auch nur die geringste Welkeerscheinung auf. Sie entwickelten sich genau so ungestört wie die Kontrollpflanzen, wodurch die Verschiedenheit dieser Bakterienart von *Bact. michiganense* nochmals erhärtet ist. —

a b c

Abb. 1.
Tomatenpflanzen, Sorte „Rheinlands Ruhm". a Kontrolle; b und c durch Tauchung der teilweise zurückgeschnittenen Wurzeln in eine wäßrige Suspension von *Bact. michiganense*, Stamm T2, am 25. November 1949 infiziert. — Aufgenommen am 21. Dezember 1949
Phot. Dr. R. Bartels

Zusammenfassung

Es wird eine neue Infektionsmethode für Tomatenpflanzen beschrieben, die es gestattet, innerhalb weniger Wochen mit großer Sicherheit nicht nur den jeweiligen Virulenzgrad von *Bact. michiganense*, dem Erreger der bakteriellen Tomatenwelke zu erkennen, sondern desgleichen auch die Anfälligkeitsunterschiede der einzelnen Tomatensorten gegenüber diesem Krankheitserreger zu bestimmen.

Literatur

1 Kotte, W., Der Bakterienkrebs, eine für Deutschland neue Tomatenkrankheit. Der Obst- und Gemüsebau **75**, 186—188, 1929.
2 Kotte, W., Der Bakterienkrebs der Tomate, eine für Deutschland neue Pflanzenkrankheit. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. **40**, 51—56, 1930.
3 Orth, H., Untersuchungen über die Biologie und Bekämpfung des Erregers der Bakterienwelke der Tomaten (*Bact. michiganense* E.F.S.). Ztbl. f. Bakt II. Abt. **96**, 376—402, 1937.
4 Smith, E. F., A new tomato disease of economic importance. Science (n. s.) **31**, 794—796, 1910.
5 Smith, E. F., An introduction to bacterial diseases of plants. p. 202—222, Philadelphia and London 1920.
6 Stapp, C., Beiträge zur Kenntnis des *Bacterium sepedonicum* Spieckerm. et Kotth., des Erregers der „Bakterienringfäule" der Kartoffel. Ztschr. f. Parasitenk. **2**, 756—823, 1930.
7 Stapp, C., Weitere Untersuchungen über die kartoffelpathogenen Eigenschaften von *Bacterium* (*Aplanobacter*) *michiganense* E. F. Smith. Ztbl. f. Bakt. II. Abt. **86**, 399—404, 1932.
8 Stapp, C., Über die experimentelle Erzeugung von Wildfeuer bei Tabak. Angew. Botanik **15**, 225—237, 1933.
9 Stapp, C., Verfahren zur Prüfung von Bohnen (*Phaseolus vulgaris*) auf Resistenz gegen *Pseudomonas medicaginis* var. *phaseolicola* Burkh., den Erreger der Fettfleckenkrankheit. Angew. Botanik **15**, 241—252, 1933.

Viröse Rübengelbsucht an Samenrüben

I. Die Bedeutung des Infektionszeitpunktes für Samenertrag und Samengüte

Von

Ludwig-Arnold Schlösser, Einbeck

Die viröse Rübengelbsucht, das yellow der Engländer, bewirkt nicht nur erhebliche Ertragseinbußen und Polarisationsminderungen bei erhöhtem schädlichem N- und gesteigertem Aschegehalt bei den einjährigen Fabrikrüben, sondern beeinflußt auch tiefgreifend die Entwicklung der Samenträger von Zucker- und Futterrüben im zweiten Entwicklungsjahr und ändert Samenmenge und Samengüte. Und wie bei den einjährigen Rüben die Auswirkungen der Infektion, Grad und Schnelligkeit des Krankheitsverlaufes entscheidend bestimmt werden durch den Zeitpunkt der Infektion, so ist es auch bei Samenträgern.

Im folgenden wird berichtet über Versuchsergebnisse, die an zu verschiedenen Entwicklungsstadien infizierten Samenträgern gewonnen wurden. Die Frage, in welchem Stadium der Entwicklung der Pflanze die Infektion stattfindet, ist für Samenertrag und Samengüte die wichtigste, wenngleich nicht verkannt werden soll, daß etwa die Zahl der infizierenden Läuse und der Ort ihres ersten Saugens an der Pflanze modifizierend wirken können. Ferner kann der Krankheitsverlauf nach Stärke und Geschwindigkeit durch den Witterungsverlauf beeinflußt werden. Warmes, sonniges Wetter beschleunigt die Vermehrung des Virus in der Pflanze und fördert das schnelle und starke Auftreten der Symptome, während kühle und feuchte Witterungsperioden zum umgekehrten Ergebnis führen.

Es wurde mit Mischinfektionen von Mosaik und Gelbsucht gearbeitet, wie sie praktisch in dem von diesen Krankheiten besonders gefährdeten Gebiete des Rheinlandes fast ausschließlich vorkommen. Während Mosaik nach unseren bisherigen Erfahrungen allein keine wesentliche Auswirkung auf Entwicklung und Leistung von einjährigen und von Samenrüben hat, Gelbsuchtvirus dagegen die bekannten Schädigungen zur Folge hat, erhöht eine Kombination beider Viren den Grad der Symptome und die Geschwindigkeit des Krankheitsverlaufes. Das vorliegende Rübenmosaikvirus zeigt unter günstigen Bedingungen bei 16—20° C im Gewächshaus 6—7 Tage nach Infektion an jungen einjährigen Rüben im 6—8-Blattstadium die ersten Symptome an den Innenblättern, während die Gelbsuchtsymptome frühestens nach 16 Tagen an den äußeren Blättern erkennbar sind. Eine möglichst genaue Festlegung der physiologischen Konstanten ist erforderlich, um der Vergleichbarkeit der Untersuchungen verschiedener Forscher willen. Ebenso notwendig erscheint es, daß bei allen Untersuchungen mit diesen Viren die gleichen Testsippen von Rüben Verwendung finden, da bekanntlich verschiedene Erblinien bei Beta-Rüben auf das gleiche Virus, bzw. auf dieselbe Viruskombination sehr unterschiedlich reagieren können.

Wenn zur Zeit die Kenntnisse und Erfahrungen über die Rassenbildung bei dem Rübenmosaik und der Rübengelbsucht noch gering sind — man kennt bei der Gelbsucht mit Sicherheit außer der normalen Form nur das stärker wirkende Netz-yellow mit etwas anderen früher auftretenden Symptomen, aber keinen faßbaren serologischen Unterschieden —, so darf doch angenommen werden, daß mit zunehmender Vertiefung der Arbeiten, im besonderen bei Prüfungen unter gleichmäßigen Gewächshausbedingungen mit einem einheitlichen Testmaterial sich ähnliche Erscheinungen „physiologischer Rassenbildung" der Viren zeigen werden, wie sie amerikanische Forscher (Carsner, Oven) bei der Untersuchung der curly-top-Virosen an amerikanischen Zuckerrüben festgestellt haben. Auch im Hinblick auf die Möglichkeiten einer Rassenbildung bei dem Rübenmosaik und der Gelbsucht ist eine möglichst genaue Beschreibung des verwendeten Virusmaterials wünschenswert.

Bei den Untersuchungen über die Bedeutung der Infektionszeit für die Leistung und Entwicklung von Samenträgern wurden vier grob eingeteilte Pflanzengruppen untersucht:

1. Gesunde Pflanzen,
2. Pflanzen im Frühsommer des zweiten Jahres infiziert,
3. Pflanzen als Stecklinge im Spätherbst des ersten Jahres infiziert,
4. Pflanzen als Stecklinge im Sommer des ersten Jahres infiziert.

Die erscheinungsbildlich gesunden Pflanzen sind in diesem Versuche als gesund bezeichnet. Absolute Virusfreiheit, die sich mit Sicherheit nur serologisch feststellen ließe, ist für die vorliegende Fragestellung unwichtig.

Von jeder der 4 Gruppen wurden etwa 120—140 Pflanzen untersucht. Durchschnittliche Samenernte je Pflanze und Verteilung der einzelnen Siebgrößen der Knäule auf die Gesamternte je Pflanze wurde bei allen Pflanzen bestimmt. Ausgekeimt wurden jedoch nur etwa je 50 Pflanzen einer jeden Gruppe. Bei den untersuchten Zuckerrübensamenträgern handelt es sich um Pflanzen der Zuchtrichtung **E** (Rabbethge und Giesecke Original), bei den Futterrüben um die Peragis rote Walze.

Während die gesunden Pflanzen den normalen, freudigen Wuchs zeigen, der sogleich nach dem Auspflanzen der Stecklinge im zweiten Jahre einsetzt unter reichlicher Blattbildung und kräftiger Verzweigung, zeigen die Pflanzen der verschiedenen Infektionsstufen erhebliche Entwicklungsunterschiede. Eine Infektion des schossenden Samenträgers führt in 2—3 Wochen zu einer Aufhellung des gesamten Chlorophylls bei von der Basis bis zum Gipfel immer deutlicher auftretenden Symptomen der Gelbsucht, während sich die Mosaiksymptome schon früher und rascher über den Blattapparat der ganzen Pflanze verteilt haben. Das Absterben des einzelnen Blattes erfolgt wie bei der einjährigen Rübe von der Blattspitze zur Blattbasis fortschreitend. Je feuchter die Witterung in dieser Zeit ist, desto häufiger treten in der Absterberegion des einzelnen Blattes Schwächeparasiten auf, in erster Linie *Sporodesmium* und einzelne *Alternaria*arten. Die oberen Blätter der Pflanze entfalten sich nicht zur völligen Größe, auch wenn die Symptome der Gelbsucht bei ihnen erst spät in Erscheinung treten. Das Verzweigungswachstum der ganzen Staude erscheint allgemein gehemmt, man hat den Eindruck, als

ob unter dem Einfluß der Infektion die vegetative Entwicklung der ganzen Staude erheblich früher zum Abschluß kommt, als bei den gesunden Stauden. Nicht nur der Blattapparat wird früher zerstört, auch die Stengel verschiedener Ordnung sterben eher ab und vertrocknen von den kleineren Seitenästen zu den Hauptsprossen fortschreitend. Samenstauden dieser Gruppe machen den Eindruck, als ob die Reife bei ihnen um 1—2 Wochen verfrüht sei.

Von dieser Gruppe ihrer Entwicklung deutlich unterschieden sind die im Spätherbst des ersten Jahres infizierten Samenträger. Bei diesen Stecklingen ist im Herbst oft äußerlich nichts an Symptomen der Virosen zu bemerken. Das kann einmal daher kommen, daß bei der im Herbst verlängerten Inkubationszeit zum mindesten Gelbsuchtsymptome im Gegensatz zu denen des Mosaik nicht mehr deutlich in Erscheinung treten. Dann aber kommt hinzu die mit abnehmender Taglänge und Sonnenscheindauer außerordentlich stark sinkende Vermehrungsrate des Virus im Blattapparat der infizierten Pflanze. Zur Zeit der Winterruhe in den Mieten hat das Virus offenbar die Möglichkeit, sich über den Kopf und in die Vegetationspunkte des Stecklings zu verteilen. Während die dunkelgrünen Sprosse des gesunden Stecklings bald nach dem Auspflanzen ein frohes Wachstum zeigen, setzt das Auswachsen der Sprosse dieser Stecklingsgruppe, die an allen Blättern Mosaiksymptome und eine allgemeine Aufhellung des Chlorophylls zeigen, nur recht zögernd ein. Nur wenige Sprosse strecken sich, und die Masse der blassen Blätter kommt nicht zur vollen Entfaltung. Allerdings muß hier darauf hingewiesen werden, daß der Grad der Symptomausprägung und Entwicklungshemmung dieser Infektionsgruppe eine weite Variation zeigt, was verschiedene Gründe hat. Neben Ort und genauem Zeitpunkt der Infektion spielen Größe und Lebenskraft des Stecklings, sowie die Wuchsbedingungen des Frühlings eine sehr große Rolle. Bei diesem Kampf zwischen dem Lebenswillen der Wirtspflanze und dem Virus können alle die Entwicklung des Stecklings fördernde Momente zu einer erheblichen Minderung der schädlichen Viruseinflüsse und damit zu einer Verbesserung der Lebensleistung des Stecklings führen. Aber auch wenn beste Bedingungen vorliegen, werden diese Samenträger bei geringer Verzweigung die Hälfte der Höhe gesunder gleichalter Samenträger nur selten überschreiten. Die als Notreife in Erscheinung tretende Abreifung der Stauden erfolgt noch früher, als bei der vorhergehenden Gruppe.

Und noch extremer liegen die Verhältnisse bei der bereits im Sommer des ersten Jahres als Steckling infizierten Gruppe. Hier sind schon im Herbst des ersten Jahres beim Einmieten die Symptome der Viren deutlich erkennbar, wobei im Extrem bereits die Blätter dieser Stecklinge durch Gelbsucht zerstört sein können. Ein Teil der Pflanzen dieser Gruppe geht bald nach dem Setzen im zweiten Jahre zugrunde. Bei den am Leben bleibenden Pflanzen zeigt sich bei geringer Bildung kranker Blätter eine nur schwache Verzweigung. Die Pflanzen machen einen sehr kümmerlichen Eindruck und der Absterbevorgang dieser Gruppe setzt um Wochen früher ein, als bei den Gesunden. Auch besonders günstige Wuchsbedingungen vermögen an dieser Entwicklung wenig zu ändern.

Die Entwicklungsvorgänge in diesen 4 Gruppen laufen für Zucker-, sowie für Futterrüben praktisch gleich. In klarer Parallele mit diesen Vorgängen stehen die durchschnittlichen Samenmengen je Pflanze, die von den Pflanzen der einzelnen Gruppen erzeugt werden. In Tabelle 1 sind die entsprechenden Angaben gemacht worden.

Tabelle 1

Durchschnittliche Saatguternte je Pflanze bei Zucker- und Futterrüben in Abhängigkeit vom Infektionszeitpunkt

	Zuckerrüben		Futterrüben	
	Ernte in g	Gesund = 100	Ernte in g	Gesund = 100
Gesund	121	100	120	100
Sommerinfektion, 2. Jahr	82	69	85	71
Herbstinfektion, 1. Jahr	26	21	44	37
Sommerinfektion, 1. Jahr	10,5	9	20	17

Virusinfektionen wirken sich in Abhängigkeit vom Infektionszeitpunkt nicht nur sehr schwerwiegend auf den durchschnittlichen Samenertrag je Staude aus, sondern auch die Güte des gewonnenen Saatgutes wird erheblich beeinträchtigt.

Ein Rübensaatgut kann gekennzeichnet werden durch die prozentualen Anteile der verschiedenen Knäulgrößen bei den Siebweiten 4 mm, 3,5 mm, 3 mm, 2,5 mm und 2 mm. Diese Verteilung, die mehr oder weniger sippeneigen ist, ist an sich kein Wertmaßstab, da es hervorragende groß-, mittel- und kleinknäulige Sippen gibt. Im vorliegenden Falle allerdings und in Zusammenhang mit den anderen Beurteilungsmomenten des 1000-Knäulgewichtes, der Knäule im Gramm, der gekeimten Knäule je 100 und der Keimzahl je 100 Knäule kommt auch der Verteilung der Knäulgrößen auf die verschiedenen Siebklassen Bedeutung zu.

In Tabelle 2 wird der prozentuale Anteil der einzelnen Knäulgrößen auf die verschiedenen Siebweiten bei dem gleichen Material von Zucker- und Futterrüben wiedergegeben:

Tabelle 2

Prozentualer Anteil der verschiedenen Knäulgrößen auf die einzelnen Siebklassen

	4 mm %	3,5 mm %	3 mm %	2,5 mm %	2 mm %
a) Zuckerrüben					
Gesund	36	21	19	16	8
Sommerinfektion, 2. Jahr	23	18	22	24	13
Herbstinfektion, 1. Jahr	9	10	20	35	26
Sommerinfektion, 1. Jahr	5	8	21	39	27
b) Futterrüben					
Gesund	29	24	21	18	8
Sommerinfektion, 2. Jahr	24	27	17	21	11
Herbstinfektion, 1. Jahr	21	18	25	24	12
Sommerinfektion, 1. Jahr	17	19	23	28	13

In der Tabelle 3 kommen für Zuckerrüben die Werte für 1000-Knäulgewicht, Knäule im Gramm, Prozent der gekeimten Knäule und Zahl der Keime nach 7 Tagen zur Darstellung.

Tabelle 3

Durchschnittliche Werte der Keimanalyse von Zuckerrübensaatgut in Abhängigkeit vom Infektionszeitpunkt

	1000-Knäulgewicht	Knäule im g	% der gekeimten Knäule	Zahl der Keime (7 Tage)
Gesund	14,8	68	81	137
Sommerinfektion, 2. Jahr . .	13,6	72	63	102
Herbstinfekton, 1. Jahr . . .	10,2	103	53	85
Sommerinfektion, 1. Jahr . .	9,5	108	38	55

Bei Futterrüben liegen die Änderungen dieser Werte in Abhängigkeit vom Infektionszeitpunkt praktisch in der gleichen Größenordnung, so daß auf die Wiedergabe hier verzichtet wird.

Betrachtet man die gefundenen Ergebnisse, so erkennt man, daß Mischinfektionen mit Rübenmosaik und Gelbsucht die Entwicklung der Samenstaude in dem zweiten Jahre um so stärker hemmt, je früher im Laufe der Individualentwicklung die Infektion erfolgt. Der herabgesetzte Chlorophyllanteil in den Blättern, die Verringerung der Verzweigung und die Hemmung der Blattentfaltung und vor allem das immer frühere Absterben der ganzen Samenstaude führt praktisch in völliger Parallele zu den Entwicklungshemmungen der verschiedenen Infektionsgruppen zu einer außerordentlichen Senkung der durchschnittlichen Samenernte je Staude.

Die vergleichende Betrachtung der Verhältnisse bei Zucker- und Futterrübe zeigt, daß offenbar die Futterrüben besonders bei den frühen Infektionen nicht so stark in Mitleidenschaft gezogen werden wie die Zuckerrüben, bei denen in der Extremgruppe der durchschnittliche Samenertrag je Staude unter 10% von dem der Gesunden liegt. Damit scheinen sich die Samenstauden der walzenförmigen Futterrüben umgekehrt zu verhalten wie die gleichen einjährigen Rüben, wo bei gleichem Infektionszeitpunkt die prozentualen Ertragsminderungen bei Futterrüben sehr viel größer sind, als bei Zuckerrüben (Heiling, Schlösser).

Aber nicht nur die geerntete Samenmenge je Staude erfährt in Abhängigkeit vom Infektionszeitpunkt eine immer steigende Verminderung, auch die Güte des gewonnenen Samens verringert sich erheblich. Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, vermindert sich der prozentuale Anteil der großen Knäule mit steigendem Krankheitsgrad. Auch hier ist die Auswirkung bei den Futterrüben geringer als bei den Zuckerrüben, bei denen z. B. der Anteil der Knäule über 4 mm von 36% auf 5% sinkt; bei den Futterrüben ist der Abfall nur von 29% auf 17%.

Dieses Steigen der prozentualen Anteile der mittleren und kleineren Sieblassen würde an sich keine Leistungsverminderung des Saatgutes bedeuten, wenn nicht, wie in Tabelle 3 zu ersehen ist, und das Sinken des 1000-Knäulgewichtes, bzw. das Steigen der Zahl der Knäule im Gramm mit steigendem Krankheitsgrad, der Prozentsatz der gekeimten Knäule von 81% auf 38% sinken, und die Zahl der Keime nach 7 Tagen in noch stärkerem Maße von 137 sich auf 55 vermindert würde.

Verminderung der durchschnittlichen Samenernte je Pflanze und Verringerung der Samengüte in Abhängigkeit vom Infektionszeitpunkt sind in erster Linie darauf zurückzuführen, daß die Virusinfektion erst das Chlorophyll bald zerstört und dann Blattapparat und Stengel frühzeitig zum Absterben bringt. Angelegte und befruchtete Knäule kommen nicht mehr zur vollen Entwicklung, die sich entwickelnden Embryonen erreichen zu einem großen Teile nicht mehr das Stadium der Keimfähigkeit, wie die Untersuchung an den einzelnen Knäulen ergab.

Die hier wiedergegebenen Ertragsminderungen in der Samenernte und Verringerungen der Samengüte stellen, soweit dies im Vergleich mit zahlreichen anderen Beobachtungen gesagt werden kann, Extreme dar, wie sie praktisch seltener vorkommen. Je mehr alle die Entwicklung des Stecklings und des Samenträgers fördernde Umstände ins Optimum kommen, desto mehr steigert sich die Fähigkeit der Wirtspflanze, mit der Infektion fertig zu werden und zu einer besseren Lebensleistung zu kommen. Dennoch sollte nur die Möglichkeit so hoher Ernteminderungen dazu führen, das Auftreten der Gelbsucht in Samenrübenbeständen von Zucker- und Futterrüben sehr ernst zu nehmen.

Welche Möglichkeiten ergeben sich für die landwirtschaftliche Praxis, diese Krankheit zu bekämpfen? In erster Linie handelt es sich darum, im ersten Jahre die Stecklinge gesund, d. h. praktisch „virusfrei“ anzuziehen. Dies wird weitgehend erreicht durch räumliche Trennung der Stecklinge von Samen- und Fabrikrüben und Bekämpfung der übertragenden Läuse (Pfirsichblattlaus und Bohnenlaus) während der Hauptflugzeiten durch geeignete Stäube- und Spritzmittel, sowie durch eine entsprechende Sanierung der Stecklinge vor dem Einmieten. Außerordentlich wichtig ist ferner eine gute Pflege des Stecklings in der Miete (Temperaturkontrolle). Ein frohwüchsiger Samenträger kann nicht nur teilweise eine erstjährige Virusattacke überwinden, auch mit Infektionen im zweiten Jahre wird bei allgemeiner Gesundheit und guten Wuchsbedingungen die Pflanze sehr viel leichter fertig. Sie zeigt zwar dann kurz vor dem Abreifen an den Blättern klare Gelbsucht- und Mosaiksymptome, aber diese Infektion wirkt sich nur schwach in Ertragsminderung aus. In virusgefährdeten Gebieten sollte der Landwirt den Rübensamen auf besonders gute Böden stellen und hinsichtlich Einreihung in die Fruchtfolge, Düngung (K und P besonders berücksichtigen), frühen Zeitpunkt des Setzens und der Pflegemaßnahmen alles tun, was allgemein entwicklungsfördernd für die Pflanze ist. Diese Arbeit der Bekämpfung der Gelbsucht in Samenträgern ist nur ein Teil der allgemeinen Bekämpfung der gefährlichen Viruskrankheit, die am stärksten die Fabrikrüben schädigt. Getragen wird diese Arbeit in erster Linie von den Pflanzenschutzämtern, den Landwirtschaftsschulen und den Beratungsringen und wird neben der Vektorenbekämpfung die Beratung des Landwirtes in allen entsprechenden pflanzenbaulichen Maßnahmen einschließen. Daß darüber hinaus der Züchter seine Vermehrer in beider und im allgemeinen Interesse in diesen wichtigen Fragen besonders betreuen muß, sei als Selbstverständlichkeit nur am Rande erwähnt. Ein verständnisvolles Zusammenarbeiten aller beteiligten Kreise wird die Gefahren dieser Viruskrankheit für den Rübensamenbau, wenn nicht vollkommen bannen, so doch auf ein Mini-

mum für die in erster Linie gefährdeten Gebiete herabsetzen und so die erforderliche Samenproduktion sichern und damit dem deutschen Bauern diese wirtschaftlich günstige Frucht erhalten.

Zusammenfassung

1. Es wird gezeigt, daß die durchschnittliche Samenernte je Pflanze bei Zucker- und Futterrüben desto geringer wird, je früher während der Entwicklung der Wirtspflanze eine Infektion mit einem Gemisch von Gelbsucht und Rübenmosaik erfolgt. Die Ertragsdepressionen sind bei der Zuckerrübe erheblich stärker als bei der walzenförmigen Futterrübe.
2. Mit Verfrühung des Infektionszeitpunktes tritt eine immer stärker zunehmende Qualitätsverminderung des Saatgutes ein. Das 1000-Knäulgewicht sinkt, die Zahl der Knäule im Gramm steigt entsprechend, vor allem aber nimmt der Prozentsatz der keimenden Knäule, sowie die Zahl der Keime nach 7 Tagen erheblich ab.
3. Es wird diskutiert, welche Fragen sich für die Praxis des Samenbaues ergeben, um in den in Betracht kommenden Gebieten trotz Virusbedrohung mengen- und gütemäßig gute Samenernten zu erzielen.

Schrifttum

1. Heiling, A., Ref. Gelbsuchttagung d. Ver. d. Zuckerind. Februar 52.
2. Heinze, K., Die Viruskrankheiten der Rüben und ihre Übertragung durch Insekten. Nachrichtenbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst 49. 1 2.
3. Stendel, W. und Heiling, A., Über die Verbreitung der Vergilbungskrankheit und des Mosaiks der *Beta*rüben in Westdeutschland. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten 56. 1949.
4. Schlösser, L. A., Infektionszeitpunkt und Ertragsminderung bei gelbsuchtinfizierten *Beta*rüben. Nachrichtenbl. Biol. Bundesanst. 1951.

Besprechungen

Waksman, S. A., The Actinomycetes. Their Nature, Occurrence, Activities, and Importance. Annales cryptogamici et phytopathologici vol. 9. XVIII + 230 p. 1950. Waltham Mass.: The Chronica Botanica Co.; Hamburg 13, Buch- und Zeitschriften-Union m. b. H. Preis $ 5,—.

Vf., der sich während seiner ganzen wissenschaftlich produktiven Lebenszeit mit dem Studium der Actinomyceten beschäftigt hat, ist unzweifelhaft der derzeit beste Kenner dieser ebenso interessanten wie wichtigen Mikroorganismengruppe. Zwar schon durch seine zahlreichen Veröffentlichungen auf dem Gebiete der Bodenmikrobiologie früher in weiteren Fachkreisen bekannt, hat sein Name durch die Arbeiten des letzten Dezenniums über antibiotisch wirksame Stoffe von Actinomyceten Weltruf erlangt. Es seien hier unter anderem nur das von ihm und seinen Mitarbeitern entdeckte Streptothricin und Streptomycin genannt, von denen das letztere besondere klinische Bedeutung gewonnen hat, wie aus einer Veröffentlichung des „Committee on Chemotherapy" vom Jahre 1946 hervorgeht. Diese Publikation stützte sich auf Berichte über rund tausend Fälle klinischer Anwendung des Streptomycins und der ersten hundert Fälle der Tuberkulosebehandlung mit dem gleichen Mittel. Die Monatsproduktion desselben beträgt bereits heute nahezu 8000 kg!

Unter diesen Umständen wird es verständlich, daß dem Erscheinen des vorliegenden Buches mit einer gewissen Spannung entgegengesehen wurde. Natürlich kann auf so begrenztem Raum — es sind nach Abzug einiger ganzseitiger Abbildungen nicht einmal 190 Seiten Text — keine erschöpfende Darstellung über das Gesamtproblem der Strahlenpilze erwartet werden; was aber der Vf. hier in gedrängter Form über unsere derzeitigen Kenntnisse auf diesem Gebiet bringt, ist eine ausgezeichnete und geradezu vorbildliche Übersicht. Wer sich über Einzelfragen näher orientieren will, kann das an Hand der beigegebenen Bibliographie, die allein 22 Seiten umfaßt.

Der Stoff ist in 12 Kapitel gegliedert. Die ersten 5 davon befassen sich mit der Terminologie, Phylogenie und Taxonomie, der Identifizierung, der Beschreibung der wichtigen Typen, der Morphologie und dem Lebenszyklus, der Variationen und Mutationen sowie der Stoffwechselvorgänge mit Einschluß der Geruchs- und Pigmentbildung.

In Kapitel 6 und 7 wird die Produktion von Enzymen und Wuchsstoffen sowie von antibiotisch wirksamen Substanzen behandelt, in Kapitel 8 und 9 das Vorkommen der Strahlenpilze in der Natur und ihre Bedeutung bei der Zersetzung organischer Stoffe pflanzlicher und tierischer Herkunft, während in Kapitel 10 und 11 die pflanzen-, tier- und menschenpathogenen Actinomyceten Berücksichtigung finden. Kapitel 12 bringt nur noch einmal eine Zusammenfassung der Kapitel 1—11.

Die bisherige große Verworrenheit auf dem Gebiete der Nomenklatur und Klassifizierung wird vor allem im ersten Kapitel deutlich. Wir müssen auch hier, wir wir es schon vom „Bergey" wissen, dessen Systematik Vf. übernommen hat, wieder einmal umlernen. Die Ordnung *Actinomycetales* schließt als erste Familie die Mycobacteriaceen ein. Die Actinomyceten sind in 2 Familien mit je 2 Genera vertreten. Die eine Familie der *Actinomycetaceae* umfaßt die Gattung *Nocardia*

und *Actinomyces*, wobei die frühere Gattung *Proactinomyces* in der ersteren aufgeht. Die andere Familie der *Streptomycetaceae* zerfällt in die Gattungen *Streptomyces* und *Micromonospora*. Die Gattung *Micromonospora* kann nach Vf. als das höchst entwickelte Genus unter den Actinomyceten angesehen werden und daher als den Pilzen am nächsten stehend, während andererseits das Genus *Nocardia* in mancher Hinsicht den Mycobakterien und damit also den echten Bakterien verwandt ist.

Von diesen 4 Gattungen sind 3 im Boden häufig. Die größere Zahl von Spezies gehört zum Genus *Streptomyces*, dann folgt *Nocardia*, und an letzter Stelle steht *Micromonospora*. So wird *Streptomyces* als der wahre und dominierende Bodentypus der Actinomyceten angesehen. Beim Verlust der Fähigkeit der Lufthypenbildung kann er leicht als *Nocardia* angesprochen werden. Dies und die große Heterogenität sowie der Pleomorphismus der Nocardien machen eine genaue Bestimmung häufig besonders schwierig. Auch im Hinblick auf die große Variabilität z. B. des als Lieferant von Streptomycin berühmt gewordenen *Streptomyces griseus* wird deshalb die Frage aufgeworfen: Ist es möglich, daß manche der Vertreter der *Nocardia*-Spezies degenerierte Formen von *Streptomyces* darstellen? Desgleichen zeigt auch *Streptomyces lavendulae*, der das Antibiotikum Streptothricin bildet, viele Varianten. Einige dieser bilden auf Glukose-Pepton-Agar ein blaues lösliches Pigment, andere ein braunes. Die Gattung *Actinomyces* endlich umschließt nur die tier- und menschenpathogenen anaeroben oder mikroaerophilen Arten.

Morphologisch wichtig ist, daß oft eine Actinomyceten-Kolonie aus 2 Typen von Mycelien besteht, zuerst aus vegetativem oder Substratmycel, auch Stroma genannt, und aus sekundärem Luft- oder sporogenem Mycel. Diese beiden Myceltypen zeigen häufig fundamentale Unterschiede in Aussehen, Zusammensetzung und biologischer Aktivität. In wenigen Fällen treten auch kompakte Körper auf, die an Coremien erinnern. Die Morphologie der sporenbildenden Hyphen soll eine gute Basis für spezifische Verschiedenheiten der Actinomyceten darstellen. Die Art der Sporenbildung ist abhängig von der Natur des Organismus und von den Kulturbedingungen. Die Konidiophoren oder Sporophoren, an den Lufthyphen gebildet, schließen mehrere Typen ein. Das Mycel zeigt wahre Verzweigung des monopodialen Typs; dichotome Verzweigung wird noch angezweifelt. Gelegentlich, so z. B. bei *Streptomyces reticuli* kommt es aber auch zu quirlartigen Verzweigungen. Das Anschwellen der terminalen Hyphenenden wird im allgemeinen als Involutionserscheinung betrachtet. Plasmolyse ist mit Sicherheit noch nicht beobachtet worden. Die Lyse wird entweder durch autolytische Enzyme oder durch spezifische Phagen ausgelöst. Bei der Spiralbildung wird eine dextrorse und eine sinistrorse unterschieden; da bei bestimmten Spezies beide Typen vorkommen, dürfte sich diese Spiraldrehung nicht mehr als Unterscheidungsmerkmal der Arten eignen.

Die Actinomycetensporen werden als „Reproduktivkörper" angesprochen, vergleichbar den Pilzsporen. Bei 60—65 °C werden sie innerhalb 10—15 Minuten abgetötet. Interessant ist die außerordentliche Spezifität der Actinophagen. So z. B. greift der Actinophag von *Streptomyces griseus* nur Streptomicin-bildende Stämme dieses Organismus an und hat keine Wirkung auf andere Stämme von *Strept. griseus* oder auch andere Streptomycin-bildende Organismen wie z. B. *Strept. bikiniensis*.

In keinem anderen Zweig der Biologie, so meint der Vf. mit Recht, bietet sich ein so reiches Feld für das Studium von Variationen und Mutationen und für die schnelle Selektion neuer Varietäten wie in der Mikrobiologie. Unter den verschiedenen Gruppen dieser Mikroorganismen stehen die Actinomyceten an prominenter

Stelle. Der leichten Variabilität ist oben schon Erwähnung getan. Bei der künstlichen Auslösung von Mutanten bei *Streptomyces* zeigen sich Röntgenstrahlen wirksamer als ultraviolettes Licht. Es gelang mit diesen z. B. inaktiv gewordene Kulturen wieder in antibiotisch wirksame Stämme zu mutieren. Die Häufigkeit solcher aktiven Mutanten schwankte von 0,01—1,2%.

Um die Konstanz bestimmter Actinomyceten mit wertvollen Eigenschaften zu erhalten, wird empfohlen, diese in feuchte sterile Erde einzuimpfen und nach entsprechender Entwicklungsdauer die Erde zu trocknen und in diesem Zustand aufzubewahren.

Was die Nährstoffaufnahme betrifft, so sollen in der Regel die Actinomyceten Proteine den Kohlehydraten als C-Quelle vorziehen. Bei gleichzeitiger Darreichung eines Proteins oder Proteinderivates und Glukose, soll zuerst das Protein angegriffen und erst dann der Zucker als Energiequelle verwertet werden. Dagegen soll der Harnstoff nur als N- und nicht als C-Quelle dienen können. Selbst komplexe organische Verbindungen wie Salicylaldehyd, Paraffine, Gummi und Chitinsubstanzen sollen von Actinomyceten angegriffen werden. Bestimmte Stämme entfalten eine markante proteolytische Aktivität gegen Wollfasern, andere haben eine lytische Wirkung auf pflanzenpathogene Bakterien, so *Streptomyces* 105 auf *Pseud. tabaci;* in Erde gebracht, soll er die Tabakpflanzen vor Infektion schützen. Der günstige Einfluß gewisser Actinomyceten auf das Wachstum verschiedener Pilze wird auf die Fähigkeit der ersteren zur Synthetisierung von Thiamin zurückgeführt. Im Gegensatz hierzu gibt es aber gerade unter den Actinomyceten sehr viele mit antagonistischen Eigenschaften. Die Gattung *Streptomyces* stellt die höchste Zahl von antibiotisch wirksamen Actinomyceten. Die Isolierung und Reindarstellung dieser antibiotischen Substanzen begann im Jahre 1940. Die ersten Präparate erwiesen sich gegenüber dem Tierkörper gleichzeitig noch toxisch, so daß sie für chemotherapeutische Zwecke nicht in Frage kamen.

Im Streptomycin fand Vf. 1944 dann aber ein Antibiotikum, das zum Unterschied von Penicillin auch gegenüber gramnegativen und auch säurefesten Bakterien wirksam war und das, wie schon oben dargelegt, bereits ausgedehnte klinische Anwendung gefunden hat. *Streptomyces griseus* ist der Lieferant dieses Streptomycins, das wiederum in 2 Formen vorkommt, dem Actidion und dem nur im Mycel enthaltenen Streptocin. Das erstere ist ebenso wie ein anderes Antibiotikum, das Antimycin, stark aktiv gegen Pilze, dagegen sind das Streptomycin und das Neomycin vollständig inaktiv Pilzen gegenüber. Einige Antibiotika sind sogar wirksam gegen Rickettsien und bestimmte Viren, mit Einschluß von Phagen. Streptothricin oder ähnliche Stoffe werden von einer ganzen Reihe von *Streptomyces*-arten gebildet. Hohe Toxizität dem Tierkörper gegenüber besitzen beispielsweise das Actinomycin und Xanthomycin, relativ gering toxisch sind neben dem Streptomycin z. B. das Aureomycin (gebildet von *Strept. aureofaciens*) und das Chloromycetin (gebildet von *Strept. venezuelae*).

Bekanntlich produzieren auch sehr viele Actinomyceten Geruchsstoffe, und es sei hier vermerkt, daß der schlechte Geruch des Moskauer Flußwassers besonders während der Sommer- und Herbstmonate auf die Existenz von Actinomyceten im Flußschlamm und ihre dortige Wirksamkeit zurückgeführt wird.

In der Natur sind die Actinomyceten sehr weit verbreitet. Im Boden soll ihr Anteil an der gesamten mikrobiellen Flora etwa 3,5—15,4% ausmachen. Mit der Tiefe des Bodens nimmt die Verhältniszahl der Actinomyceten zu den Bakterien noch zu, wobei natürlich die Gesamtzahl der Mikroorganismen abnimmt. In an organischer Substanz reichen Böden sollen sogar 39—46% auf die Actinomyceten entfallen. Im Stalldung und Kompost überwiegen die thermophilen Arten, doch

sind davon nicht alle obligat, sondern zahlreiche auch fakultativ thermophil. Im Teichschlamm überwiegt die *Micromonospora*. Im offenen Meer werden Actinomyceten im allgemeinen nicht gefunden.

Über den Anteil der Actinomyceten an den im Boden sich abspielenden Abbau- und Umbauprozessen bei der Zersetzung organischer Substanzen und der Entstehung stabiler Humusformen ließ sich bisher ein klares Bild noch nicht gewinnen, vor allem über die intermediären Stoffwechselprodukte ist unsere Kenntnis noch recht mangelhaft. Bei der Zersetzung von Stroh sollen Actinomyceten erhebliche Mengen von Cellulose und Lignin abbauen können. Desgleichen sollen manche Arten Chitin, Steroide, Agar und sogar Gummi und Paraffine angreifen. Selbst der sonst schwer zersetzbare Bodenhumus soll von Actinomyceten nicht verschont werden.

Was die pflanzenpathogenen Actinomyceten betrifft, so scheint es sich bei diesen wohl ausschließlich um Vertreter der Gattung *Streptomyces* zu handeln. Der färberische Nachweis der Schorferreger der Kartoffeln, ihre Isolierung aus Schorfpusteln und die bisher als Erreger angesprochenen *Streptomyces*arten sind kurz beschrieben, desgleichen ihre Unterscheidung von saprophytischen Actinomyceten. Sie alle sind Farbstoffbildner und „distinct aerob". Manche können auch an schorfanfälligen Kartoffelsorten Stengelnekrosen verursachen. Der Gürtelschorf der Zuckerrüben soll ebenfalls durch verschiedene Actinomycetenarten hervorgerufen werden, die Naßfäule der Bataten durch *Streptomyces ipomea*. Schorferreger sollen auch die Wurzeln von *Daucus carota* und *Pe. sativum* sowie gelegentlich Karotten und Pastinaken befallen können. Die Unkräuter wie *Solanum nigrum*, *Amaranthus retroflexus* und andere sollen in schoriverseuchten Böden auch schorfig werden können. Sogar für eine Erdbeererkrankung, bei der Deformierungen der Blätter, Chlorose und dgl. auftreten, werden *Streptomyces*arten verantwortlich gemacht, doch bedarf es in allen diesen Fällen noch einer einwandfreien Bestätigung.

Hinsichtlich der tierischen und menschlichen Strahlenpilzerkrankungen sei nur erwähnt, daß die durch anaerobe Organismen hervorgerufene Actinomycose und die durch aerobe Arten verursachte Nocardiose häufig nicht streng genug auseinandergehalten werden. Seit Einführung des Penicillins in die Therapie haben diese Krankheiten für den Menschen erfreulicherweise viel von ihrer Gefährlichkeit eingebüßt.

Ohne Zweifel hat die bisher doch relativ recht wenig beachtete Gruppe der Actinomyceten in neuester Zeit allein durch die Vielzahl von Vertretern mit antibiotischen Eigenschaften weitgehendstes Interesse und große Bedeutung erlangt, zumal unter den bis jetzt rein dargestellten Antibiotieis aus dieser Gruppe einzelne einen erheblichen therapeutischen Wert besitzen. Die Annahme ist durchaus nicht unwahrscheinlich, daß sich unter ihnen oder solchen, die in Zukunft noch zu erwarten sind, eine Reihe finden wird, die sich auch zur Anwendung auf phytopathologischem Gebiet eignet.

Das sind vor allem die Gründe, warum an dieser Stelle das ausgezeichnete Buch von Waksman eine so ausführliche Würdigung erhalten hat, die es unumstritten verdient. C. Stapp.

Bawden, F. C., Plant Viruses and Virus Diseases. 3. völlig umgearbeitete Auflage. 1950 (337 S.) — Waltham, Mass. (USA): The Chronica Botanica Co; Groningen (Niederlande): N. V. Erven P. Noordhoff. Preis 6,— $.

Das bekannte Werk des in der experimentellen Virusforschung rühmlichst bekannten Verfassers liegt nunmehr in der 3. Auflage vor. Wie der Vf. in seinem Vorwort ausführt, wurde es einer völligen Umarbeitung unterzogen, so daß es eher ein neues Buch als eine neue Auflage genannt werden kann. Diese gründliche

Umarbeitung machte sich nicht deshalb notwendig, weil eine wichtige Entdeckung die Grundlagen verschoben hätte, sondern wegen der auf allen Teilgebieten ständig anwachsenden neuen Erkenntnisse. Inhaltlich entspricht das Werk etwa dem allgemeinen Teil einer pflanzlichen Viruslehre, es befaßt sich nur mit dem Grundsätzlichen, Einzelbeschreibungen von Krankheiten sind darin nicht enthalten. Besonderes Gewicht wird auf die Darlegung der methodischen Grundlagen gelegt, der ganze Kapitel gewidmet sind. Der Stil ist knapp, klar und flüssig. Zu den Problemen wird kritisch und vorsichtig Stellung genommen und ein besonderer Vorzug des Werkes ist, daß die Grenzlinie zwischen Gesichertem und Hypothetischem stets eingehalten wird.

Das Buch gliedert sich in 17 Kapitel. Im ersten, einleitenden, Kapitel wird Virus allgemein definiert als ein obligat parasitischer Krankheitserreger mit Dimensionen unterhalb von 200 mμ, wobei auf das Unbefriedigende und Vorläufige einer solchen Definition hingewiesen wird. Es folgen Ausführungen über die wirtschaftliche Bedeutung der Viruskrankheiten. Die Natur des pflanzenpathogenen Virus wird erörtert, insbesondere wird die Frage diskutiert, ob man die aus der kranken Pflanze isolierten infektiösen Virusproteine als das Virus selbst anzusehen habe oder ob das infektiöse Prinzip sozusagen als Verunreinigung in ihnen enthalten sei. Die Frage wird für das vorliegende Buch im ersten Sinn entschieden, da die zweite Annahme eine überflüssige Komplizierung bedeuten würde, und es wird der Satz von Occam (um 1330) zitiert: Entia non sunt multiplicanda praeter necessitatem. Der Inhalt der weiteren Kapitel kann hier nur angedeutet werden.

Kapitel 2 bietet einen Überblick über die äußere Symptomatik. Die Variantenbildung der Viren in ihrer Bedeutung für das Krankheitsbild und der Einfluß der Außenbedingungen auf die Symptombildung werden gewürdigt. Kapitel 3 befaßt sich mit den inneren Symptomen: Intrazelluläre Einschlüsse (X-Körperchen und Viruskristalle), Pathologie der Plastiden, nekrotische Gewebeveränderungen. Kapitel 4 schildert die möglichen Übertragungsarten. Kapitel 5 behandelt ausführlich die mannigfachen Beziehungen zwischen den Virusarten und den sie übertragenden Insekten („vectors"). In Kapitel 6 werden Variation und Mutation der Viren und ihre Ursachen erörtert. Zur Frage der sogenannten erworbenen Immunität wird Stellung genommen. Kapitel 7 befaßt sich ausschließlich mit den serologischen Reaktionen der Pflanzenviren. Kapitel 8 ist der Darstellung der qualitativen Methoden der Virusbestimmung gewidmet, insbesondere werden die viel angewandte Methode der Einzelherdzählung sowie der Präzipitintest kritisch beleuchtet. Die Kapitel 9—13 bilden eine Einheit, sie befassen sich mit der Physiko-Chemie der Viren. Kapitel 14 behandelt die Nomenklatur und Klassifikation der Viren. Das entschieden zu kurz gekommene 15. Kapitel befaßt sich mit der pathologischen Physiologie, das 16. Kapitel gibt einen Überblick über die Bekämpfungsmaßnahmen gegen die Viruskrankheiten, und in dem letzten „Speculations on the origins of viruses" überschriebenen Kapitel wird die Frage der Herkunft, Entstehung und Vermehrung der Viren erörtert. Literaturlisten finden sich in der Regel am Schluß der einzelnen Kapitel.

Wie es angesichts der stürmischen Entwicklung der Forschung und der jahrelangen Erschwernis des Literaturaustauschs kaum anders sein kann, sind die einzelnen Stoffgebiete etwas ungleichmäßig behandelt, auch vermißt man des öfteren Hinweise auf wichtige Arbeiten nicht englisch schreibender Autoren. Ein besonderes Lob verdient noch die Ausstattung. An instruktiven Abbildungen wird nicht gespart, die Wiedergaben sind oft sogar besser als in den Originalveröffentlichungen. Alles in allem ein Buch, an dem keiner vorübergehen kann, der sich mit den Prinzipien der Virusuntersuchung vertraut machen will, und das auch dem fortgeschrittenen Fachmann ganz unentbehrlich ist. E. Köhler, Celle.

Schwerdtfeger, F., „Grundriß der Forstpathologie". Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg, 1950. 210 Seiten, 139 Abb. Ganzl. geb. 13,60 DM.

Das vorliegende Buch stellt gewissermaßen eine verkleinerte Neuauflage der „Waldkrankheiten" des gleichen Verfassers dar, ein Buch, welches 1944 erschienen und längst vergriffen ist. Durch Berücksichtigung der neuen Literatur ist das Werk auf den Stand der Zeit gebracht. Der notgedrungenen vorgenommenen Einschränkung des Umfanges sind manche Einzelheiten zum Opfer gefallen, die sich verschmerzen lassen, leider aber auch alle Literaturzitate.

Der Aufbau des Werkes entspricht nicht dem der üblichen phytopathologischen Lehr- und Handbücher. Der Verfasser bemüht sich nämlich, alle die Waldwirtschaft betreffenden Krankheiten nicht nur im einzelnen sondern vor allem in ihren Beziehungen zu den verschiedensten Faktoren zu behandeln. Entsprechend dieser Auffassung ist dem speziellen Teil, in dem die einzelnen schädlichen Tiere, Pilze usw. beschrieben werden, weniger als ein Drittel des gesamten Werkes gewidmet. Bemerkenswert ist hierbei die Anordnung nach Baumarten, so daß man leicht sieht, was für diesen oder jenen Baum für Krankheiten oder Schädlinge in Frage kommen, was sie für Schäden hervorrufen und wie sie allenfalls bekämpft werden können. Allerdings kann dabei jedem Pilz oder Insekt nur ein geringer Raum gewidmet werden. Die durch abiotische Faktoren wie Hitze, Frost, Hagel, Wassermangel usw. hervorgerufenen Schäden werden zusammenfassend besprochen. Auch menschlichen Einwirkungen durch Streunutzung, Rauch oder Feuer ist ein Abschnitt gewidmet.

Der umfangreichste Teil betrifft die Herausarbeitung der allgemeinen Probleme der Walderkrankungen und der Waldtherapie. Von seinen Erfahrungen bei Insektenkalamitäten ausgehend, versucht der Autor für alle tierischen und pflanzlichen Schädlinge die Grundgesetze für das Auftreten und den Umfang der Ausbreitung zu ermitteln. Liegen für Insektenkalamitäten umfangreiche Untersuchungen vor, welche eine genaue Prognose und rechtzeitige Gegenmaßnahmen ermöglichen, so liegen die Verhältnisse allerdings bei den Pilzerkrankungen wesentlich anders. Hier stehen nur wenige Einzelbeobachtungen in der Literatur zur Verfügung, so daß die vom Verfasser beabsichtigte Schau mehr als lückenhaft bleiben muß und auch nur den einzelnen Baum statt des Waldes betreffen kann, wenn man sich vor Verallgemeinerungen hütet. Gerade aber hier, wo nur gewisse einzelne Ergebnisse an bestimmten Baum- oder Pilzarten vorliegen, macht sich das fehlende Literaturzitat besonders bemerkbar. Denn wenn auch der Verfasser sich vor einer Verallgemeinerung hütet, so ist doch der weniger kritische Leser sehr dazu geneigt. Dies kann dann leicht zu absonderlichen Anschauungen führen, wie man ihnen in der Praxis nicht selten begegnet.

Im einzelnen gliedert der Verfasser diesen Teil in „Entstehung, Verlauf und Auswirkungen der Waldkrankheiten (Generelle Forstpathologie)" und „Verhütung und Bekämpfung der Waldkrankheiten (Forstschutz)". Untergeteilt wieder im wesentlichen in Krankheitsvoraussetzungen und Krankheitserscheinungen einerseits, und Waldhygiene sowie Waldtherapie anderseits.

Auf dem Gebiet der Forstpathologie (im engeren Sinne) und der Forstinsektenkunde wurden in Deutschland seit Jahrzehnten grundlegende Arbeiten geleistet, doch hat bisher nur selten jemand versucht, das vorliegende Material zusammenzutragen. Während es in fast allen Ländern neuere zusammenfassende Werke über die Baumkrankheiten gibt, liegt hier bei uns ein ausgesprochener Mangel vor. Darum ist es besonders erfreulich, daß der Verfasser keine Mühe gescheut hat, die derzeitigen Erkenntnisse auf dem Gebiet der Waldkrankheiten, soweit sie sich auf deutsche Verhältnisse beziehen, zusammenzutragen. Zycha, Hann. Münden.

A. P. Kelley, Mycotrophy in Plants. Waltham, Mass.: The Chronica Botanica Co., Hamburg 13, Buch- und Zeitschriften-Union m. b. H. 1950. 223 S. $ 4,50.

Im Rahmen der von F. Verdoorn herausgegebenen „New series of Plant Science Books" behandelt der vorliegende Band 22 das schon sehr umfangreich gewordene Gesamtgebiet der Mykorrhiza. Der Autor nennt sein Werk „Vorlesungen" und teilt es dementsprechend in 12 Kapitel von gleichem Umfang ein, welche in sich abgeschlossen sind. Im ersten Kapitel wird die historische Entwicklung der Mykorrhiza-Erkenntnisse und der speziellen Forschung behandelt. Sodann werden die einzelnen Pflanzengruppen besprochen, in denen mykotrophe Arten gefunden worden sind, angefangen von den Algen bis zu den letzten Ordnungen der höheren Pflanzen. Weiterhin wird berichtet, welche Pilzordnungen bzw. -arten als Mykorrhizapilze beschrieben wurden, sowie welche Erkenntnisse über fossile Mykorrhizen vorliegen. Das Vorkommen mykotropher Pflanzen in verschiedenen Erdteilen oder Ländern wird ebenso aufgezählt wie in der 6. Vorlesung der Standort (Boden, Wasser, Wärme, Licht usw.) behandelt wird. Abschnitte 7 bis 9 umfassen die Forschungen über die Ausbildung der Mykothalli und Mykorrhizome der niederen Pflanzen sowie die Mykodomatien und typischen Mykorrhizen der höheren Pflanzen. Die letzten drei Kapitel sind schließlich den ökologischen und physiologischen Fragen gewidmet. Über die bisher aufgestellten Theorien und die Beziehungen zwischen Pilz und Pflanze wird hier berichtet, sowie über die Methoden der Pilzverdauung in der Pflanze.

Für jeden, der sich über die bisherigen wissenschaftlichen Arbeiten auf dem Gebiet der Mykorrhiza informieren will, ist das Buch eine wertvolle Einführung in das schwierige Mykorrhiza-Problem. Das Werk ist jedoch kein Lehrbuch im üblichen Sinne. Dafür wird zu wenig auf Einzelheiten eingegangen und auch die erforderliche geistige Synthese nicht geboten. Vielleicht wird man dem Autor am ehesten gerecht, wenn man sein Buch als Bericht über die Forschungen auf dem Gebiet der Mykotrophie bezeichnet, ein Mittelding zwischen Lehrbuch und Sammelreferat. 16 einfache Strichzeichnungen und 5 photographische Tafeln sind beigefügt.

Zycha, Hann.-Münden.

Kuhl, W., Die technischen Grundlagen der kinematischen Zellforschung. 185 Seiten, 57 Abbildungen. Springer-Verlag, 1949. DM 26,—.

Vf. führt in einem einleitenden Teil über „das Arbeitsgebiet der kinematischen Zellforschung" ganz richtig aus, daß jede neue Methode in der biologischen Wissenschaft mit großen Schwierigkeiten zu kämpfen hat. Das gilt insbesondere für die kinematische Zellforschung, denn noch immer trifft man auf die falsche Vorstellung, daß der „Film" nicht in die Biologie gehört. Man faßt ihn also als Selbstzweck auf, der er aber unter keinen Umständen sein darf und kann. Es ist also nicht damit getan, ein beliebiges Objekt unter verschiedener — aber beliebiger — Veränderung des Zeitmomentes aufzunehmen. Für jeden zu erforschenden Vorgang ist vorher genauestens das „Änderungsverhältnis" des Zeitmomentes festzulegen. Auch die Vorbereitungen solcher Aufnahmen bedürfen genauer Vorversuche, da es oft schwer ist, das zu filmende Objekt lange genug ungestört am Leben zu erhalten. Aber das sind Vorbereitungen, die auch für jede andere Methodik moderner Untersuchungen zu erfolgen haben.

In dem großen Abschnitt über „Die Aufnahmeapparatur nebst Hilfseinrichtungen und Lichtquellen" werden einzelne Apparaturen beschrieben, die im Institut des Vf. Verwendung finden: 1. eine einfache Zeitrafferapparatur und 2. die Askania-Z-Kamera. Betrachtet man diesen Abschnitt oberflächlich an Hand der Abbildungen,

so kann man sich nicht eines gewissen Schreckens vor den „Apparaturen“ erwehren. Das wird besonders dem wenig technisch veranlagten Biologen so gehen. Der hier gezeigte technische Aufwand an Gerät und Raum wird erst richtig auffällig, wenn man die fertigen Apparaturen der Firma Carl Zeiß, Jena und Zeiß-Winkel, Göttingen kennt, bei denen alles „fertig“ und „handgerecht“ angebracht ist. Im Gegensatz dazu bedürfen die hier beschriebenen Apparaturen einer Wartung, die kaum von einem Wissenschaftler allein bewältigt werden kann. Ein modernes Institut wird deshalb kaum auf diese angeführten Apparaturen zurückgreifen, es sei denn, es hat Zeit, eine Zeitrafferapparatur selbst „zu basteln“. In diesem Falle allerdings wird das Buch von unschätzbarem Wert sein, denn es enthält sehr viele Hinweise und Kniffe, deren Kenntnis unendlich wichtig ist, und die man sich nur mit viel Lehrgeld erbasteln müßte.

Aber selbst bei Vorhandensein der fertigen Apparaturen greift man gern zu dem Buch, denn auch die „Anleitungen und Ratschläge zur mikroskopischen Untersuchungstechnik lebender Zellen und Gewebe in Verbindung mit Zeitrafferfilmaufnahmen“ bieten eine Fülle von wichtigen notwendigen Hinweisen, die man sich genauestens erarbeiten sollte.

Den wichtigsten Teil bildet ohne Zweifel der Abschnitt über „die wissenschaftliche Filmauswertung“. Die bisher erschienenen Einzelarbeiten aus dem Institut werden hier zu einer Einführung in die „Teilbildanalyse“ zusammengefaßt. Die eigentliche wissenschaftliche Arbeit beginnt erst, wenn der „Film“ fertig ist, denn nicht immer erkennt man am „Laufbild“ neue zelluläre oder intrazelluläre Bewegungen. Erst die Teilbildanalyse, die messende Auswertung der Einzelbilder, bringt bisher unbekannte Bewegungsvorgänge zutage, die ohne den Vermittler Film verborgen geblieben wären.

Allen Freunden der kinematischen Zellforschung ist so das Buch ein guter Ratgeber.

Johannes, Braunschweig.

Aus dem Institut für Pflanzenpathologie der Landwirtschaftlichen Hochschule in Ultuna, Uppsala

Über die Entwicklungsgeschichte, Variabilität und Pathogenität von *Sclerotinia trifoliorum* Erikss.

Von

Karl Björling

Mit 92 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — I. Material und Methodik. — II. Die Entwicklung und Morphologie der Apothecien; 1. Temperaturabhängigkeit; 2. Lichtabhängigkeit; 3. Das Verhältnis zwischen haploiden und dikaryotischen Geweben in den Apothecien; 4. Sterilitätserscheinungen. — III. Die Zytologie der Apothecien; 1. Ascogene Hyphen; 2. Die Kernverhältnisse im Ascus; 3. Chondriosomen und extranucleäre Körper; 4. Zytologische Beobachtungen an *Sclerotinia sclerotiorum* und *S. borealis*. — IV. Die Variabilität des Pilzes; 1. Allgemeine Beobachtungen, a) Modifikative Variation, b) Durch genotypische Unterschiede bedingte Variation; 2. Analysen von Feldmaterial; 3. Kreuzungsversuche mit einigen Biotypen. — V. Die Pathogenität des Pilzes; 1. Infektionsversuche an Kleestämmen; 2. Infektionsversuche an Kleeklonen. — VI. Bemerkungen über die Voraussetzungen der Züchtung kleekrebsresistenter Wirtspflanzenstämme.

Einleitung

Während des letzten Krieges wurden in einer schwedischen Sonderzeitschrift zwei Arbeiten über den Kleekrebspilz, *Sclerotinia trifoliorum* Erikss. publiziert (Björling 1939, 1942), die wahrscheinlich nur den Spezialisten bekannt sind. Da diese Arbeiten außer rein pflanzenpathologischen Versuchsdaten auch einige Gesichtspunkte von allgemeiner mykologischer Art enthalten und da sie an einem verhältnismäßig unzugänglichen Orte publiziert worden sind, wird hier nach Vorschlag des Herrn Prof. Dr. E. Gäumann eine Zusammenfassung der wichtigsten pflanzenpathologischen und mykologischen Ergebnisse dieser *Sclerotinia*-Arbeiten vorgelegt. In der folgenden Darstellung sind auch später erschienene Abhandlungen über den Kleekrebspilz, vor allem die dänische Arbeit von Frandsen (1946), berücksichtigt worden.

I. Material und Methodik

Das Pilzmaterial stammte aus Apothecien oder Sklerotien von infizierten Wirtspflanzen (*Trifolium pratense, repens, hybridum, incarnatum, Medicago sativa, lupulina, Melilotus alba* und *Lotus corniculatus*) aus Schweden, Dänemark

und USA. Vegetative Kulturvermehrungen derselben auf Nähragar (Glukose 25,00 g, KNO_3 5,00 g, KH_2PO_4 2,50 g, $MgSO_4$ 1,25 g, Agar 15,00 g, Leitungswasser 1000 g) werden im folgenden als Stämme bezeichnet; Einzelascosporenkulturen, die sämtlich nur Zellkerne derselben genotypischen Konstitution enthalten, als Biotypen. Jene wurden in der Regel mit der Nadel aus Ascosporenverbreitungen auf Agarplatten herauspräpariert; in gewissen Fällen wurden sie direkt aus den Asci mit dem Mikromanipulator (Zeiß, Mipu) isoliert.

Von 92 Ausgangskulturen der *S. trifoliorum*, die homokaryotisch selbstfertil ist, wurden nach Bildung von Sklerotien und Apothecien Einzelascosporenkulturen angelegt. Durch vergleichende Züchtungen auf Nähragar sind sie näher analysiert worden. Dabei zeigten sich 76 der Ausgangskulturen als genotypisch verschieden. Weitere Analysen der Ascosporennachkommen innerhalb dieser 76 verschiedenen Stämme ergaben, daß 62 von ihnen nur einen Biotyp enthielten (homokaryotische Stämme) und 14 mehrere Biotypen (heterokaryotische Stämme). Nähere Einzelheiten der Methodik dieser Analysen gehen aus S. 144 bis 147 hervor.

Um die Apothecienentwicklung zu studieren, wurden Keimungsversuche mit Sklerotien teils in geschlossenen Glastöpfchen mit sterilisierter Erde oder Wasseragar (Henson und Valleau 1940) im Laboratorium und Gewächshaus unter kontrollierten Temperatur-, Licht- und Feuchtigkeitsverhältnissen, teils im Freien unter natürlichen Bedingungen, durchgeführt.

Als Wirtspflanzen für die Infektionsversuche wurden im Felde verschiedene Rotkleestämme oder Klonpflanzen verwendet, die mit Sklerotienmehlaufschlämmungen (Rudorf 1937) infiziert wurden. Um die Entwicklungsgeschwindigkeit des Myzels bei verschiedenen Temperaturen auf der Wirtspflanze und in Kultur zu vergleichen, wurden abgeschnittene Blätter bestimmter Rotkleeklone im Laboratorium infiziert. Vor der Infektion waren die Blätter in geeigneten hohen Glastöpfchen (30 cm^3) mit 5 cm^3 Nähragar so arrangiert, daß die leicht mit Alkohol flächensterilisierten, gleich langen Blattstiele eben noch bis an die Agarfläche herunterreichten. Nach der Infektion, die mit gleich großen Agarblöckchen, welche Myzelspitzen von *Sclerotinia* enthielten, auf die Mitte der mittelsten Kleinblattflächen ausgeführt wurde, wuchs das Myzel durch den Blattstiel an die Agarfläche und bildete dort regelmäßig Sklerotien. Die Zeit zwischen Infektion und Sklerotienbildung konnte als Maßstab des Myzelzuwachses gewertet werden. Bei Temperaturen von mehr als 20°C war diese Methode infolge unregelmäßiger und bereits an den Blattstielen stattfindender Sklerotienbildung nicht geeignet.

Für die zytologischen Studien wurde in Bouin und 2 BD fixiert; von der letztgenannten Fixierungsflüssigkeit eignete sich eine halbe Konzentration am besten für fleischige und eine ganze für mehr oder weniger sklerotisierte Stadien. Die Färbungen geschahen mit Hämatoxylin (somatische Kerne in ascogenen Hyphen), Kristallviolett (Kernteilungen in Asci) oder gemäß der Feulgenschen Nuklealreaktion. Die Spezialfärbung von Chondriosomen wurde laut Benda und Regaud F ausgeführt.

II. Die Entwicklung und Morphologie der Apothecien

1. Temperaturabhängigkeit

Keimungsversuche mit verschiedenen Biotypen von *S. trifoliorum* zeigten normale Apothecienentwicklung bei 5 ± 2 °C, 10 ± 2 °C, 15 ± 2 °C und 20 ± 2 °C; bei 25 ± 0 °C erhielt man Apothecienstiele aber keine normalen Fruchtscheiben; bei 0 ± 2 °C und 30 ± 0 °C war die Entwicklung gehemmt.

Sklerotien, die vor dem Auslegen im Keimungsmilieu bei —1 °C aufbewahrt waren, keimten gleichzeitig mit unbehandelten Kontrollen, d. h. bei 18 °C nach etwa 3 Wochen. Eine Aufbewahrung der Sklerotien bei —10 °C während einer Dauer von 10 Tagen vor dem Auslegen verzögerte die Keimung wenigstens um 4 Wochen. Die exakte Zeit der Verzögerung konnte in diesem Versuch nicht festgestellt werden, weil die vorbehandelten Sklerotien 4 Wochen nach der Keimung der Kontrollen unabsichtlich solchen Lichtverhältnissen ausgesetzt wurden, die an sich hemmend auf die Apothecienentwicklung einwirken. Die Keimung dieser Sklerotien fand erst 5 Monate nach der Kontrolle statt.

2. Lichtabhängigkeit

Aus Keimungsversuchen bei verschiedenen Lichtverhältnissen ergab sich, daß gewisse kleine Lichtmengen für die Entwicklung von Fruchtscheiben notwendig sind, während direkte Sonnenbestrahlung von mehr als 2 Stunden je Tag die Entwicklung von sowohl Apothecienstielen als auch Fruchtscheiben zeitweilig unterdrückte. Daß diese Hemmung unabhängig von der temporären Temperatursteigerung bei direkter Sonnenbestrahlung stattfindet, ging aus Versuchen im Laboratorium bei konstantem diffusem Licht hervor. Bei täglicher zweistündiger Behandlung der Keimungskulturen mit supermaximaler Temperatur (35 °C) und etwa 18 °C während des Restes des Tages wurden nämlich Apothecienstiele von 3—6 mm Länge entwickelt. Die durch größere Lichtmengen hervorgerufene Hemmung der Apothecienbildung bei *S. trifoliorum* ist später durch die Untersuchungen von Coe (1949) bestätigt worden.

Die Apothecienstiele sind positiv phototropisch, zeigen aber keine geotropischen Reaktionen. Die bei Dunkelheit gebildeten Stiele von Sklerotien, die auf der Erdoberfläche liegen, wachsen in verschiedenen Richtungen mehr oder weniger senkrecht zur Sklerotienoberfläche (Abb. 1). Da die Stiele von unterirdischen Sklerotien in der Natur mehr oder weniger gerade in Richtung der Bodenoberfläche wachsen, muß man sich vorstellen, daß diese Wachstumsrichtung von anderen Faktoren als negativem Geotropismus, wahrscheinlich von ihrem Sauerstoffbedarf (positiver Aërotropismus) bestimmt wird. Laut mehreren Autoren (Rehm 1872, Wadham 1925, Pohjakallio 1940 u. a.) ist *S. trifoliorum* in allen Entwicklungsstadien sehr sauerstoffbedürftig.

Im Dunkeln werden keine Fruchtscheiben, sondern nur etiolierte Stiele gebildet; bei fortwährendem Schatten mit Lichtwerten von etwa 50 Lux bekommt man lange Stiele mit kleinen Scheiben (Abb. 2), bei etwa 500 Lux kürzere und dickere Stiele und größere Scheiben (Abb. 3). Bei Lichtwerten von etwa 1000 Lux und kurzen Augenblicken direkten Sonnenlichtes am Tag werden die Stiele noch kürzer und die Scheiben größer (Abb. 4). Weitere Vermehrung des

direkten Sonnenlichtes bis auf die Grenzwerte für Apothecienbildung (1 bis 2 Stunden je Tag) verkürzt die Stiele noch mehr (Abb. 5).

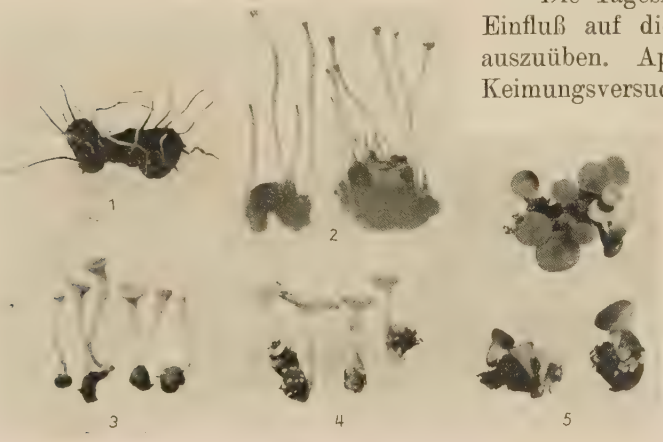


Abb. 1—5

Einfluß des Lichtes auf die Morphologie der Apothecien. 1: Dunkel. 2: Lichtwert etwa 50 Lux. 3: Lichtwert etwa 500 Lux. 4: Lichtwert etwa 1000 Lux plus kurze Strahlen direkten Sonnenlichtes. 5: Lichtwert etwa 1000 Lux plus ungefähr $^1/_2$ Stunde direkten Sonnenlichtes je Tag

Die Tageslänge scheint keinen Einfluß auf die Apothecienbildung auszuüben. Apothecien werden in Keimungsversuchen sowohl im Dezember als auch im Juni erhalten. Das Nichtvorhandensein von Apothecien in der Natur von Mai bis Juli dürfte also nicht auf die Lichtverhältnisse sondern in erster Hand auf andere Faktoren wie ungeeignete Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse im Boden zurückgeführt werden können.

3. Das Verhältnis zwischen haploiden und dikaryotischen Geweben in den Apothecien

Aus histologischen Beobachtungen von Apothecienstielen verschiedener Entwicklungsstadien, gebildet unter verschiedenen Lichtverhältnissen, geht hervor, daß die Entwicklung der haploiden Gewebe des Fruchtkörpers (Kortikalschicht und Grundgewebe) und die Entwicklung der Dikaryophase (ascogoniale Zellen, ascogene Hyphen und Asci) zwei in der Regel zeitlich verschiedene Prozesse sind, wovon ersterer im Dunkeln vor sich gehen kann, während letzterer eine gewisse Lichtmenge benötigt.

In den im Dunkeln gebildeten und in gewissen im Schatten mit kleinen Lichtwerten entwickelten Aphothecienstielen wurden keine ascogenen Hyphen beobachtet. Schon bei Lichtwerten von etwa 50 Lux treten in den Stielen ascogene Hyphen spärlich und bei höheren Lichtwerten sehr reichlich auf.

Aus den histologischen und morphologischen Beobachtungen (Abb. 1—5) geht also hervor, daß die haploide Phase der Fruchtkörper mit zunehmenden Lichtmengen verkürzt wird, um bei dem im vorigen Abschnitt erwähnten Grenzwert ganz gehemmt zu werden. Die Entwicklung der Dikaryophase vermehrt sich dagegen mit zunehmenden Lichtmengen und zeigt auch beim Grenzwert für die Bildung der Apothecienstiele keine Tendenz zur Verminderung. Das Vorhandensein von ascogenen Hyphen in sehr kurzen sonnenbestrahlten Stielen deutet endlich daraufhin, daß diese beiden verschiedenen Entwicklungsprozesse bei bestimmten Lichtverhältnissen in der Nähe vom oben erwähnten Grenzwert im großen und ganzen gleichzeitig vor sich gehen können.

4. Sterilitätserscheinungen

Einige von den im Felde eingesammelten *Sclerotinia*stämmen waren steril insofern, daß sie keine Apothecien bildeten. Auch in Sporennachkommen von einigen selbstfertilen reinen Linien trat im Laboratorium eine solche Sterilität in einer Häufigkeit von 10—30% auf. Die sterilen Kulturen zeigen nach mehreren vegetativen Vermehrungen auf Nähragar verschiedene Degenerationserscheinungen (z. B. verminderte und schließlich ganz gehemmte Sklerotienbildung, langsamerer Myzelzuwachs und vermehrte Luftmyzelbildung). Gleichartige Degenerationserscheinungen sind von Whetzel (1937) bei *Septotinia podophyllina* (Ellis u. Ev.) Whetz. beschrieben.

Beim Suchen nach den Ursachen und der Natur der Sterilität im *Sclerotinia*material wurden unter anderem folgende Beobachtungen gemacht. In einem Versuch wurden nach Dekapitierung und Auslegen der Fruchtscheibe zum Sporenstäuben aus einem homokaryotischen Apothecium 100 Einzelascosporenkulturen isoliert: 25 nach 1 Stunde, 25 nach 6, 25 nach 12 und 25 nach 24 Stunden. Von den nach 1 und 6 Stunden isolierten waren sämtliche gekeimten Kulturen (24 bzw. 23) fertil; von den nach 12 Stunden 23 fertil von 25 gekeimten (8% Sterilität) und von den nach 24 Stunden isolierten nur 17 von 23 (etwa 26% Sterilität). Dies deutet darauf hin, daß der in Frage kommende Sterilitätstypus von einer Störung der Mutterapothecien bei der Dekapitierung oder beim Erschüttern der Apothecien induziert wird, wenn diese von der Keimungskultur abgehoben werden. Zytologische Beobachtungen an sowohl homo- als auch heterokaryotischen Apothecien, die 6—24 Stunden nach der Dekapitierung fixiert werden, zeigen in gewissen Asci eine Ungleichheit in der Sporendifferenzierung (4 dunkle und 4 helle Ascosporen, Abb. 44), die nicht in unmittelbar fixierten Apothecien vorkommt.

Diese Beobachtungen machen es wahrscheinlich, daß ein enger Zusammenhang zwischen Störung im Mutterapothecium und ungleicher Sporendifferenzierung und Sterilität dieser Art vorliegt und daß die Störung auf entscheidende Weise in die Gestaltung der Sporen eingreift, die später sterile Myzelien bilden. Dies scheint entweder durch eine Veränderung der Struktur der sterilen Sporenkerne (z. B. durch Chromosomenaberrationen) geschehen zu können oder durch eine ungleichmäßige Ausrüstung von zytoplasmatischen Organen (Chondriosomen, extranucleären Körpern, Abb. 48—64) bei der Differenzierung der in Frage kommenden Ascosporen.

Obwohl exakte Beweise dafür, welche von diesen Möglichkeiten wirklich vorhanden sind, schwerlich aus dem vorliegenden Material erbracht werden können, sprechen doch verschiedene Tatsachen dafür, daß die Ursache dieser Sterilität nicht in Veränderungen der Kernstruktur zu suchen ist. Dies würde mit Rücksicht auf die geringe Art der Störung eine große Labilität der Kerne voraussetzen, welche in dem verhältnismäßig umfangreichen Material durch eine bedeutende Frequenz sicherer Mutationen verschiedener Typen innerhalb der Sporennachkommen sich gezeigt haben müßte. Das ist jedoch nicht der Fall. Die mit der Sterilität verknüpften gleichartigen Degenerationssymptome innerhalb verschiedener Biotypen würden weiterhin unter dieser Voraussetzung sich auf gleichartige und bestimmte Störungen in der Kernstruktur gründen, was weniger wahrscheinlich zu sein scheint. Auch der Umstand, daß sterile und fertile Nachkommen aus demselben Biotyp keine Demarkationslinien (S. 146) miteinander bilden, sowie das Vorkommen von normal fertilen Kreuzungsapothecien aus sterilen und fertilen Einzel-

sporenkulturen von verschiedenen Biotypen (S. 149), sprechen gegen die Annahme von Veränderungen in der Kernstruktur.

Die andere Möglichkeit, eine ungleichmäßige Verteilung von Chondriosomen oder extranucleären Körpern bei der Differenzierung der Ascosporen, ist denkbar, obwohl zytologische Beweise hierfür nicht vorliegen. Die äußere Störung würde in diesem Falle eine Verrückung des normalen, harmonischen Verhältnisses zwischen den Kernteilungen und der Verteilung dieser zytoplasmatischen Körper verursachen. Sporen mit einer mangelhaften oder abnormen Ausrüstung von letztgenannten Körpern dürften laut dieser Annahme Veranlassung zu sterilen Myzelien geben. In diesem Zusammenhang muß erwähnt werden, daß solche Annahmen komplettieren und an die von Winge aufgestellte Hypothese von einer ungleichmäßigen Chondriosomenverteilung als möglicher Ursache für Letalität bei direkter Diploidisierung in gewissen Hefepilzmyzelien anknüpfen (Winge und Laustsen 1940).

Schließlich muß hervorgehoben werden, daß die in Frage kommende Apothecienstörung, deren Nachwirkung in ungleicher Sporendifferenzierung und Sterilität bei gewissen Sporennachkommen besteht, von so geringfügiger Art ist, daß die Annahme berechtigt sein kann, daß auch in der Natur ähnliche Störungen mit ähnlichen Nachwirkungen vorkommen können. Hierdurch kann man bei Untersuchungen von Feldmaterial, das unter nicht näher bekannten Umständen isoliert worden ist, leicht Fehlschlüsse ziehen, indem auch genetisch einheitliches Material ein falsches Bild von Heterokaryotie geben kann.

III. Die Zytologie der Apothecien

1. Ascogene Hyphen

Der Hauptteil der stielförmigen Apothecienanlage besteht innerhalb einer Kortikalschicht mit großen unregelmäßigen Zellen aus einem Grundgewebe von langgestreckten Zellen mit vielen Kernen, deren Karyotin peripher angeordnet ist (Abb. 6). Im zentralen Teil dieser Grundgewebe bemerkt man einen Strang von schmalen, regelmäßigen, mehrkernigen Hyphen mit vielen Anastomosen; das Karyotin der Kerne erscheint als ein kleiner Zentralkörper (Abb. 7). Von diesen Hyphen stammen die Paraphysen in dem zukünftigen Apothecium.

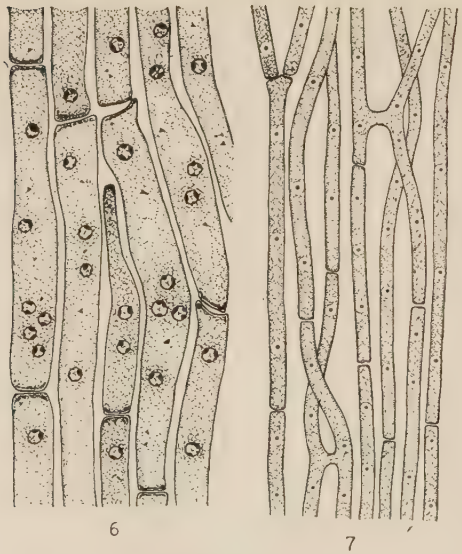


Abb. 6 und 7
6 Grundgewebe im Inneren des Apothecienstieles. 7 Ursprungshyphen zu den Paraphysen im zukünftigen Subhymenium. 1800mal

Differenzierte Sexualorgane fehlen. Die ascogenen Hyphen stammen aus plasmareichen, etwas breiteren Hyphenzellen, die an verschiedenen Stellen im subhymenialen Teile der Apothecienanlage zwischen den Ursprungshyphen zu den Paraphysen auftreten. In diesen ascogonialen Zellen ist bereits eine paarweise Anordnung der karyotinreichen Kerne zu erkennen (Abb. 8, 9). Die Dikaryotisierung vollzieht sich autogam und, nach den zytologischen Beobachtungen zu urteilen, ohne Mitwirkung von Mikrokonidien. Daß die Mikrokonidien bei *S. trifoliorum* nicht als Spermatien dienen, geht ferner daraus hervor, daß homokaryotische, in Alkohol eingetauchte und durch

Abflammen flächensterilisierte Sklerotien im sterilen Milieu ohne Bildung von Mikrokonidien normale Apothecien entwickeln.

Die sexuelle Funktionslosigkeit der Mikrokonidien bei *S. trifoliorum* kann mit dem Umstand in Zusammenhang gebracht werden, daß diese Art selbstfertil ist und ihre Dikaryophase direkt aus vegetativen homokaryotischen

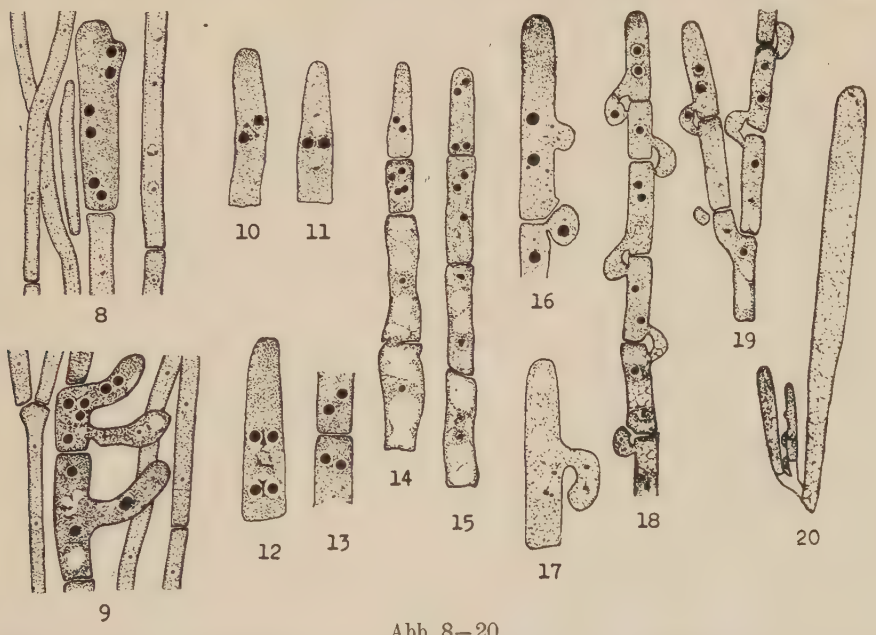


Abb. 8—20
Entwicklung der Dikaryophase. 8—9: Ascogoniale Zellen und Auswachsen der primären ascogenen Hyphen. 10—15: Primäre ascogene Hyphen. 16—19: Sekundäre ascogene Hyphen mit Schnallen, die als laterale Ausbuchtungen angelegt werden. 20: Transitorische Ascusbildung (lebendes, ungefärbtes Material). 8—13, 16—17: 1800 mal; 14—15, 18—19: 1200 mal; 20: 670 mal

Hyphen entwickeln kann. Sie steht im Gegensatz zu gewissen anderen *Sclerotinia*-Arten, z. B. *S. gladioli*, *convoluta* und *cinerea* (Drayton 1934, 1937, Groves und Drayton 1939), die selbststeril sind und für die Entwicklung ihrer Dikaryophasen zwei genotypisch verschiedene Zellkerne erfordern, von denen einer, wie man vermuten kann, durch Mikrokonidien von einem fremden Biotyp zugeführt wird.

In den aus den ascogonialen Zellen auswachsenden primären ascogenen Hyphen liegen bei den Kernteilungen die beiden Kerne in gleicher Höhe miteinander in einer zur Längsachse der Zelle senkrechten Fläche (Abb. 11). Simultane Teilungen der Kernpaare kommen in den zwei, drei obersten Zellen vor und sowohl die terminale als auch darunterliegende Zelle sind demzufolge vorübergehend vierkernig, aber in der Regel werden später Zellenwände als transversale Septa zwischen den Tochterkernpaaren angelegt (Abb. 12—15). Beim Zuwachs der zweikernigen Zelle liegen die beiden Kerne übereinander. Der Mechanismus, der die Kerne in gleicher Höhe miteinander in die Ausgangslage der simultanen Teilung zwingt, ist unklar. Möglicherweise spielen

zwei winzige zentrosomenähnliche extranucleäre Körper, die regelmäßig zwischen den Kernen bei ihrer Einnahme der seitlichgestellten Ausgangslage der Teilung auftreten (Abb. 10), als richtungsdirigierende Organe eine Rolle. Die beiden extranucleären Körper wandern unmittelbar vor der Kernteilung nach Orten, die später von den beiden Tochterkernpaaren eingenommen werden (Abb. 11).

In den, aus den primären auswachsenden, sekundären ascogenen Hyphen werden Schnallen als laterale Ausbuchtungen angelegt (Abb. 16, 21). Der Vorgang bei den Kern- und Zellteilungen ist genau der gleiche wie in den dikaryotischen Hyphen vieler höherer Basidiomyceten (Abb. 17—19). Von den Schnallenzellen ausgehende Verzweigungen kommen bei den sekundären ascogenen Hyphen vor, aber nicht bei den primären, offenbar infolge Mangels an Schnallen als potentielle Vegetationspunkte in diesem Hyphentypus. Das Verhältnis zwischen der Ausbreitung der beiden Hyphentypen ist schwer zu bestimmen, da sie nicht gleichzeitig vorkommen, sondern aufeinander folgen. Ascogene Hyphen von beiden Typen mit Längen gegen 100 μ und bestehend aus etwa 10 Zellen können jedoch beobachtet werden.

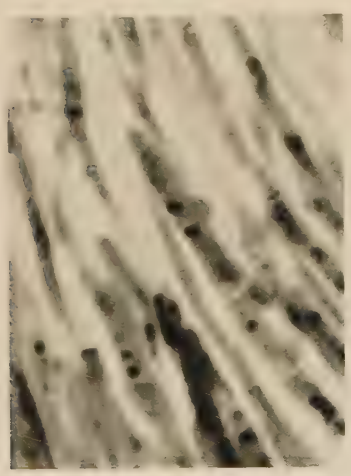


Abb. 21
Sekundäre ascogene Hyphenzellen. Die laterale Ausbuchtung, die später zur Schnalle auswächst, ist im Zentrum sichtbar. Etwa 1500 mal

Die Entwicklung der sekundären ascogenen Hyphen wird mit dem Auswachsen der terminalen Zelle zum Ascus beendet. Gleichzeitig wandert der Kern der subterminalen Zelle in die Schnalle hinein, die dadurch zweikernig wird und entweder direkt zum zweiten Ascus herauswächst oder durch simultane Kernteilungen die Entstehung eines Büschels von Asci veranlaßt (transitorische Ascusbildung). Abweichungen von diesem Schema sind gewöhnlich; eine oder mehrere der zweikernigen Zellen, die Asci höherer Ordnung bilden sollten, können statt dessen vor der Ascusbildung zu zwei- bis mehrzelligen ascogenen Hypen mit Schnallen auswachsen (Abb. 20).

Die Struktur der fixierten ruhenden Kerne in den ascogenen Hyphen — ein chromatischer Zentralkörper mit umgebender farbloser Karyolymphe — scheint eine ziemlich allgemeine Erscheinung bei den Ascomyceten zu sein (Raymond 1934, Gwynne-Vaughan und Barnes 1937). Bei *S. tritoliorum* sind die ascogenen Hyphenkerne färbbar mit Feulgen, wobei die Zentralkörper einen schwachen, aber deutlichen roten Farbton annehmen; was eine Gegenwart von thymonucleinsäurehaltigem Material innerhalb oder an der Fläche dieser Körper andeutet. In Verbindung mit der Karyogamie bei der Ascusbildung verlieren die Zentralkörper diese Färbbarkeit und werden gleichzeitig mit dem Auftreten eines normalen basichromatischen Fadensystems in den Kernen gewöhnliche Nucleolen. Diese Fadenstruktur der Kerne wird bis zum Vierkernstadium in den reifen Ascosporen beibehalten, wenn die Zentralkörperstruktur wiederum angenommen wird (Abb. 42). Bei einigen Ascomyceten z. B. *Geopyxis catinus*, *Acetabula leucomelas* und *Humaria rutilans* (Guillermond 1904, 1905, 1911, Wilson 1937) sind indessen die ascogenen Hyphenkerne auch im fixierten Zustand in Nucleol und chromatische Fäden differenziert. Diese Fälle machen es wahrscheinlich, daß die bei der Mehrzahl zytologisch untersuchter Ascomyceten beobachteten Zentralkörper-

strukturen der ascogenen Hyphenkerne von der Fixierung hervorgerufene Artefakten sind; und daß diese Kerne im lebenden Zustand mit einem in der Karyolymphe ausgebreiteten normalen, aber labilen Karyotinnetz ausgerüstet sind.

Bei einem Vergleich zwischen verschiedenen Theorien betreffend die Funktion der Ascomycetenhaken und Basidiomycetenschnallen (Lohwag 1927, Martens 1932, Greis 1938), kann das untersuchte Material von *S. trifoliorum* komplettierende Unterstützung für Greis' Theorie erbringen. Diese Theorie läuft darauf hinaus, daß die Haken in ihrer ursprünglichen Funktion Vermehrungsorgane für die sporenproduzierenden Elemente, die Asci, sind. Demgemäß wirken bei *S. trifoliorum* Schnallen in den sekundären ascogenen Hyphen indirekt (Ausgangspunkte für Verzweigungen) und direkt (Mitwirkung bei der transitorischen Ascusbildung) als Vermehrungsorgane für Asci.

Regenerationsversuche mit herauspräparierten, ascogenen Hyphen von *S. trifoliorum* auf synthetischem Nährboden verliefen negativ (vgl. die negativen Ergebnisse mit *Pyronema* [Kerl 1937] und die positiven mit *Sordaria* [Greis 1941]). Die Frage nach der Fähigkeit der dikaryotischen Phase der Ascomyceten zum selbständigen Zuwachs auf synthetischem Nährboden ist nicht gelöst. An den positiven Ergebnissen mit *Sordaria* von Greis ist nicht zu zweifeln, aber die regenerierten Hyphen wurden nicht zytologisch untersucht, und nach seinen Abbildungen zu urteilen, ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die Hyphen zu gewöhnlichen, vegetativen haploiden Zellen umgeschlagen sind.

2. Die Kernverhältnisse im Ascus

Nach Karyogamie in der terminalen ascogenen Hyphenzelle, die später zum Ascus auswächst (Abb. 22 rechts, Abb. 23—26) wird die meiotische Prophase eingeleitet, in welcher man mehrere für eine normale Reduktionsteilung charakteristische Stadien wiederfinden kann. Während eines beträchtlichen Teiles der Prophase (vom Pachytän bis an die Diakinese), der während des Hauptteiles der Größenzunahme des Ascus dauert, ist die Empfänglichkeit der chromatischen Fäden im Zygotenkern für basische Farbstoffe sehr stark vermindert, und in dieser Stufe wird nur der Nucleol von Farbstoffen dieser Art gefärbt. Die Chromosomenzahl in der Meiose, die wegen des Vorkommens von extranucleären, basophilen Körpern schwer zu bestimmen ist, scheint in sämtlichen 3 Kernteilungen im Ascus bei 6 zu liegen. Frandsen (1946) gibt die haploide Zahl als 8 an. Keine weitere Reduktion (Brachymeiose) kommt in der dritten Teilung im Ascus vor, was im Einklang damit steht, daß es nur eine Kernverschmelzung im Entwicklungszyklus, nämlich im jungen Ascus, gibt. Die Differenzierung der Ascosporen, die mit reifen, normal vier-, selten achtkernigen Sporen endet, geht aus Abb. 37—42 hervor. Die obenerwähnten zytologischen Beobachtungen von ascogenen Hyphen und Kernverhältnissen im Ascus sind im wesentlichen von Frandsen (1946) bestätigt.

Abb. 22
Sekundäre ascogene Hyphenzellen. Rechts Karyogamie in der terminalen Zelle. Etwa 1500mal

In unmittelbar fixierten Apothecien ist die Ascosporendifferenzierung gleichmäßig (Abb. 43). In Apothecien, die abgeschnitten und zum Sporen-

Abb. 23—42. Die Kernverhältnisse im Ascus. 23—26: Karyogamie. 27—29: Prophase. 30—34: Meta-Telophase der ersten Teilung. 35—37: Zwei-, vier- und achtkernige Asci. 38—42: Differenzierung der Ascosporen. 1800mal

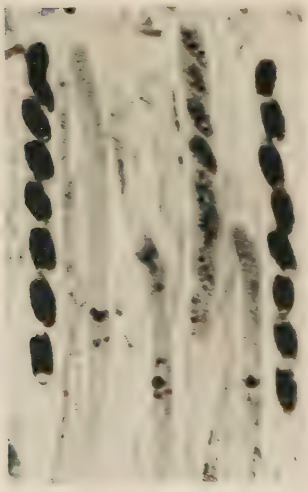


Abb. 43. Asci mit normalen Sporen. Etwa 500mal

stäuben gelegt werden, kann man nach etwa 24 Stunden später stattfindender Fixierung Abweichungen von der normalen gleichmäßigen Sporendifferenzierung beobachten, indem gewisse Asci vier dunkle und vier helle Sporen zeigen (Abb. 44). Dies findet sowohl in homo- als auch heterokaryotischen Asci statt und kann deshalb nicht ein Ausdruck für eine Faktorenspaltung sein. Diese Erscheinung kann als das sichtbare Zeichen für Störungen von der Verteilung des nucleären oder extranucleären Materiales bei den Kernteilungen im Ascus gedeutet werden, welche bei Gelegenheit des Abschneidens der Apothecien eintreffen. Es ist bemerkenswert, daß nur solche Kombinationen zwischen hellen und dunklen Sporen vorkommen, welche auch bei wirklicher Faktorenspaltung in der ersten oder zweiten Teilung eingetreten wären (Abb. 45).

was zeigt, daß diese Störung, die offenbar keine echte Mutationen hervorruft, nur auf die beiden ersten Teilungen einwirkt. Keine von den nach einer Störung in der dritten Teilung spezifischen Sporenkombinationen wurde beobachtet.

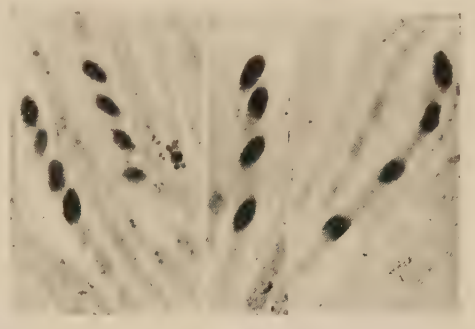


Abb. 44
Asci mit 4 dunklen und 4 hellen Sporen. Von links: 4 dunkle + 4 helle; 2 helle + 4 dunkle + 2 helle; 3 dunkle + 1 helle Spore + 1 dunkle + 3 helle Sporen und am längsten rechts jede zweite dunkel und hell. Etwa 400mal

Gewisse Abweichungen von den durch Dodge (1927) und Kniep (1929) aufgestellten theoretischen Konfigurationen für die möglichen Faktorenspaltungen im Ascus können hinsichtlich des *Sclerotinia*materials durch eine Interferenz bei den Kernteilungen im Ascus in Form von Platzwechsel von neugebildeten Schwester- und Nichtschwesterkernen, wofür zytologische Beobachtungen zugrunde liegen, erklärt werden (Abb. 46, 47). Der mögliche Zusammenhang zwischen der ungleichmäßigen Sporendifferenzierung und gewissen Formen induzierter Sterilität ist früher erörtert worden (S. 133).

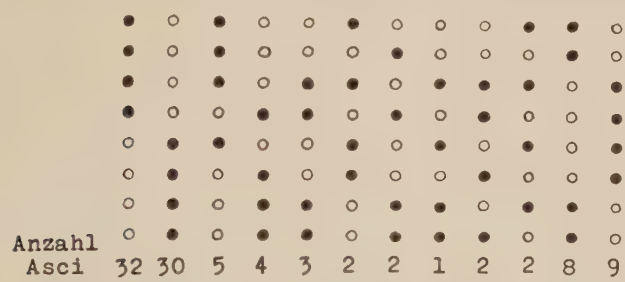


Abb. 45
Die Verteilung von verschiedenen Sporenkombinationen in 100 beobachteten Asci mit verschieden differenzierten Sporen

Das diffuse Stadium mit verminderter Basichromaticität im Zygotenkern während der Prophase scheint, nach älteren Untersuchungen zu urteilen, eine ziemlich allgemeine Erscheinung in der Ascomycetmeiose zu sein. Guillermond, der eine große Anzahl Arten zytologisch studiert hat, hebt besonders hervor (1905), daß nur 2 Arten mit sehr karyotinreichen Kernen (*Humaria rutilans*, *Peziza catinus*) ein abweichendes Verhalten mit beibehaltener basichromatischer Färbbarkeit während der ganzen Prophase zeigen. Auch bei *Ascobolus stercorarius* (Björling 1941), der sich gleichfalls durch große Karyotinmengen im primären Ascuskern auszeichnet, ist die verminderte Färbbarkeit der chromatischen Fäden in dieser Entwicklungsstufe nicht ausgeprägt.

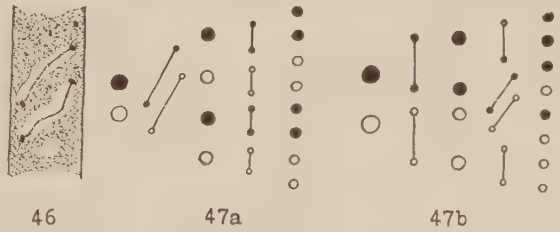


Abb. 46 und 47
Platzwechsel zwischen Schwester- und Nicht-Schwesterkernen durch Interferenz zwischen den Kernspindeln während der zweiten und dritten Teilung im Ascus. 46: Zwei Telophasefiguren von der dritten Teilung. 1800mal. 47: Schematische Darstellung des Verlaufs: a Interferenz bei der zweiten, b eine der Möglichkeiten von Interferenz bei der dritten Teilung

Guillermond (l. c. 1905) hat die verminderte Basichromaticität in früheren Prophasestadien dadurch zu erklären versucht, daß er sie mit dem bei gewissen Arten beobachteten Auftreten von basophilen Körpern außerhalb der Kernmem-

bran in Zusammenhang brachte. Dies sollte also eine mehr oder weniger vollständige Absonderung im Zytoplasma von der basichromatischen Substanz des Kernes mit Ausnahme des Nucleolus, der die ganze Zeit seine Färbbarkeit beibehält, zur Voraussetzung haben. Die extranucleären basophilen Körper bei den in dieser Arbeit untersuchten *Sclerotinia*-Arten können aber im ganzen genommen nicht als Absonderungen basichromatischen Materials vom primären Ascuskern geleitet werden. Gegen eine solche Annahme spricht unter anderem ihr regelmäßiges Auftreten im Zwei- und Vierkernstadium im Ascus, sowie außerhalb der vegetativen Sporenkerne und in den ascogenen Hyphen.

Um die Entstehung des diffusen Prophasestadiums zu erklären, ist es nicht notwendig, eine Ausstoßung von fester Substanz vom Zygotenkern während der Prophase vorauszusetzen. Chemische Veränderungen innerhalb des Kernes können an und für sich mit beibehaltener Karyotinmenge eine hinreichende Ursache für eine vorübergehende Verminderung der Färbbarkeit sein. Diese vorausgesetzten chemischen Veränderungen können dadurch bedingt sein, daß der Zygotenkern im Ascus außer seiner generativen auch eine bedeutende vegetative Aufgabe zu erfüllen hat. Ein Vergleich mit dem Zellenwachstum der Phanerogammeiose (PMC. EMC) zeigt, daß der Zygotenkern im Ascus während der Prophase im Zusammenhang mit dem enormen und in der Regel schnellen Wachstum des Ascus eine anspruchsvollere metabolische Kontrolltätigkeit zu erfüllen hat als entsprechende Kerne bei den Phanerogamen (prospektive Meiocytkernen). In dieser Beziehung weist die Ascomycetmeiose einer gewisse Gleichheiten mit der animalen Meiocytentwicklung, insbesondere der Ovogenese auf, wo ein sehr charakteristisches diffuses Stadium innerhalb Pachytän und Diplotän im Zusammenhang mit dem bedeutenden Wachstum und der Differenzierung des Eies vorkommt (Wilson 1928).

3. Chondriosomen und extranucleäre Körper

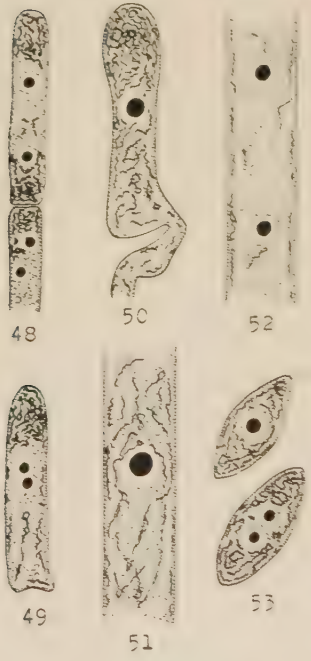


Abb. 48—53
Chondriosomen bei *S. trifoliorum*. 48: Ascogene Hyphenzellen. 49—50: Jüngere Asci. 51—52: Ältere Asci. 53: Ascosporen. 1800mal.

Die Chondriosomen sind in den ascogenen Hyphen (Abb. 48) und in jüngeren Asci (Abb. 49, 50) ziemlich kurze, mehr oder weniger gewundene Fäden, oft mit einigen kugelförmigen Anschwellungen oder ganz geschlossene Ringe mit einzelnen Verdickungen. Die Verteilung in den Zellen ist in den ascogenen Hyphen ausgeprägt bipolar; in jungen Asci scheint der ganze Zytoplasmaraum von Chondriosomen ausgefüllt zu sein, doch mit einer kleinen Andeutung dichterer Anhäufung im apikalen Teil. In älteren einkernigen Asci sind die Chondriosomen längere und dünnere Fäden; die früheren Anschwellungen sind mehr oder weniger verschwunden. Eine gewisse Tendenz zur Anhäufung um den Kern herum ist zu sehen (Abb. 51), aber im übrigen ist die Verteilung in der Zelle bedeutend dünner als in jüngeren Stadien. Die absolute Menge des chondriosomalen Materials scheint während des Zuwachses des Ascus keine wesentlichen Veränderungen zu erfahren. In älteren Asci ist dagegen die Chondriosomenmenge erheblich geringer, was im Einklang mit früheren Beobachtungen an anderen Ascomyceten steht (Raymond 1934). Während der folgenden Kernteilungen sind die Chondriosomen im großen und ganzen längs der Ascuswand gruppiert (Abb. 52),

aber sie werden bei der Sporendifferenzierung mehr oder weniger gleichmäßig um die acht Sporenkerne herum gesammelt. In den Ascosporen beobachtet man kurze Fäden oder Ringe von ähnlichem Aussehen wie in den ascogenen Hyphen (Abb. 53). Es ist also deutlich, daß eine gewisse Kontinuität in der Chondriosomenverteilung vorhanden ist und daß jede neue Sporengeneration ihren Myzelzuwachs mit einer Ausstattung beginnt, die bei normaler Verteilung etwa einem Achtel des im Ascus vorhandenen Materials dieser Art entspricht.

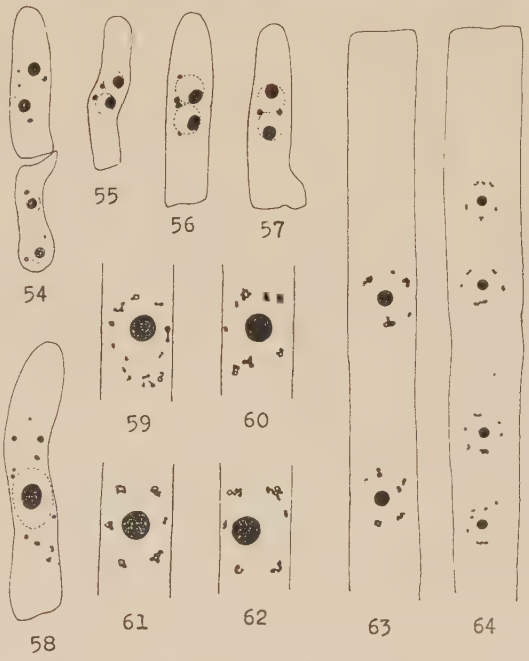


Abb. 54—64
Extranucleäre Körper bei *S. trifoliorum*. 54—55: Ascogene Hyphenzellen. 56—57: Bei der Karyogamie im jungen Ascus. 58: Kurzer einkerniger Ascus. 59—60: Mittellange einkernige Asci. 61—62: Einkernige Asci von definitiver Länge. 63—64: Zwei- und vierkernige Asci. — Kristallviolett mit verlängerter Einwirkung von Nelkenöl. 1800mal

Extranucleäre basophile, nicht chondriosomale Körper treten in den Zellen aller Entwicklungsstadien des Pilzes auf. Es ist wahrscheinlich, daß einige nur zufällige ergastische Produkte sind, aber wenigstens ein Teil von ihnen, insbesondere jene in den ascogenen Hyphen (Abb. 54 bis 57), sind durch ein so regelmäßiges Auftreten und eine so bestimmte Form ausgezeichnet, daß sie als normale Zellenbestandteile aufgefaßt werden müssen. Auch das Verhalten und die Anzahl dieser Körper (5—10, am meisten 6—7) rund um die Ascuskerne ist ziemlich regelmäßig (Abb. 61—64). In den reifen Ascosporen kommt nur ein extranucleärer Körper jedes Kernes vor (Abb. 42). Frandsen (1946) hat auch gleichartige Körper, einen je Kern, in den vegetativen haploiden Hyphen beobachtet. Es ist also wahrscheinlich, daß eine gewisse Kontinuität vorliegt. Die Funktion dieser Körper ist unsicher; Beobachtungen bei den Kernteilungen in den ascogenen Hyphen deuten darauf hin, daß sie möglicherweise Funktionen einer Art für die beiden Kerne orientierendes und richtungbestimmendes Organ im Zusammenhang mit der Einnahme der seitlichgestellten Ausgangslage der simultanen Kernteilungen ausüben.

4. Zytologische Beobachtungen an *Sclerotinia sclerotiorum* Schröt. und *S. borealis* Bubák und Vleugel

Beide Arten sind homokaryotisch selbstfertil und *S. trifoliorum* morphologisch nahestehend. *S. sclerotiorum* bedarf keiner näheren Erläuterung; *S. borealis* ist ein ziemlich allgemeiner Parasit auf verschiedenen Grasarten im nörd-

lichen Skandinavien. Da die Beobachtungen der Entwicklung dieser Arten, abgesehen von kleineren zytologischen und morphologischen Einzelheiten, im wesentlichen mit *S. trifoliorum* übereinstimmen, kann die Darstellung mit Hilfe einiger Abbildungen ganz kurz geschehen.

Bei beiden Arten fehlen differenzierte Sexualorgane. Die Entwicklung der ascogenen Hyphen (Abb. 65, 73, 74) stimmt mit denen bei *S. trifoliorum* überein. Der Zygotenkern im Ascus, der bei *S. borealis* etwas größer ist, durchläuft auch in der Prophase ein markiertes Stadium mit verminderter

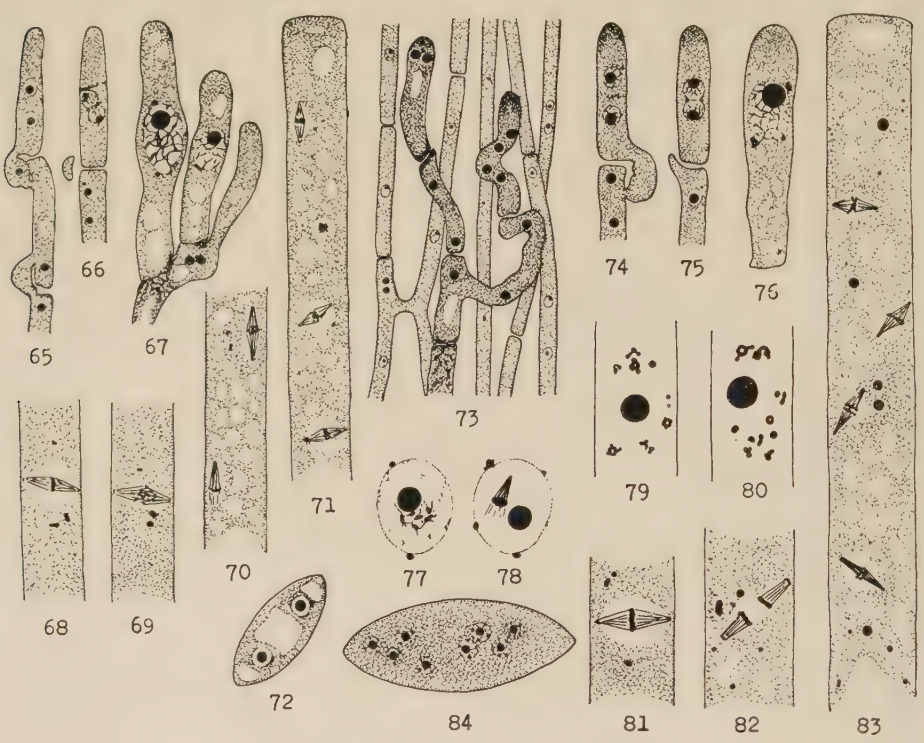


Abb. 65—84
65—72: *Sclerotinia sclerotiorum*. 73—84: *Sclerotinia borealis*. 65: Sekundäre ascogene Hyphe. 66: Karyogamie. 67: Transitorische Ascusbildung. 68—69: Teilung 1. 70: Teilung 2. 71: Teilung 3. 72: Reife zweikernige Ascospore. — 73: Primäre ascogene Hyphen. 74: Sekundäre ascogene Hyphen. 75: Karyogamie. 76: Junger Ascus. 77—78: Prophase und frühe Metaphase 1. 79—80: Extranucleäre Körper während der Prophase 1. 81—82: Teilung 1. 83: Teilung 3. 84: Reife achtkernige Ascospore. 1800mal.

Empfänglichkeit des Karyotins für basische Farbstoffe. Die haploide Chromosomenzahl scheint bei beiden Arten um 6 herum zu liegen, und eine weitere Reduktion (Brachymeiose) ist in der dritten Teilung nicht zu sehen. Das Aussehen der Chondriosomen und extranucleären Körper stimmt im großen und ganzen mit *S. trifoliorum* überein.

Der am meisten auffällige Unterschied zwischen den 3 Arten liegt in der Ascosporengröße und in der Zahl der Kerne in den reifen Sporen. *S. sclerotiorum* hat die kleinsten Sporen und nur 2 Kerne in diesen (Abb. 72), *S. trifoliorum*

etwas größere und fast regelmäßig vierkernige Sporen (Abb. 42) und *S. borealis* schließlich die größten Sporen mit in der Regel 8 (Abb. 84), aber nicht selten 16 Kernen. Die Größenordnung der Ascosporen und die damit korrelierte Kernanzahl sind als sichere Artmerkmale anzusehen.

IV. Die Variabilität des Pilzes

1. Allgemeine Beobachtungen

a) Modifikative Variation

Um die durch genotypische Unterschiede bedingte Variation des Pilzes studieren zu können, muß man natürlich die modifikative Variationsbreite verschiedener Eigenschaften genau kennen. Die durch Veränderungen in Nährsalzgehalt, pH, Temperatur und Kohlensäuregehalt hervorgerufenen modifikativen Variationen sind eingehend von Pape (1937) studiert. Nicolaisen et al. (1940) zeigten den erheblichen Einfluß der Substratmenge auf das Aussehen der Kulturen. Ein Teil dieser Befunde ist bestätigt und durch andere Versuche mit Rücksicht auf den in gewissen Fällen beträchtlichen Einfluß des Alters des Substrates sowie der Menge und des Alters des Impfmaterials erweitert worden (Björling 1942, S. 83—91). Zusammenfassend kann jedoch gesagt werden, daß eine genaue Berücksichtigung aller kontrollierbaren Milieufaktoren die modifikative Variationsbreite in künstlicher Kultur (Nähragar) zu einer Geringfügigkeit reduzieren kann.

Es ist von gewissem Interesse zu notieren, daß das Substrat, auf welchem die Sklerotien gebildet werden, auf eine so stabile Eigenschaft wie die Ascosporengröße modifizierend einwirkt. Gleichalte Sklerotien von demselben Biotyp, die auf Klee, Brot und Nähragar gebildet worden waren, wurden in dasselbe Keimungsmilieu ausgelegt und keimten ungefähr gleichzeitig mit nur einigen Tagen Zwischenzeit. Die Ascosporenlängen, gemessen an zusammen 100 Sporen aus 10 Apothecien je Herkunft, waren Klee: $14{,}07 \pm 0{,}13\ \mu$, Brot: $12{,}81 \pm 0{,}13\ \mu$ und Nähragar: $12{,}51 \pm 0{,}12\ \mu$. Die Ascosporen, die aus den Apothecien von den auf Klee gebildeten Sklerotien herstammen, sind signifikativ größer als die aus Brot und Nähragar; zwischen den beiden letzteren ist die Differenz nicht statistisch sicher.

b) Durch genotypische Unterschiede bedingte Variation

Messungen der Ascosporenlänge verschiedener Biotypen zeigen, daß statistisch sichere Unterschiede nur zwischen einigen, aber nicht zwischen allen Biotypen vorliegen. So waren z. B. die Zahlen für 8 verschiedene aus Schweden, Dänemark und USA. stammenden Biotypen (Apothecien aus Sklerotien von Nähragar) in μ: $14{,}25 \pm 0{,}13$, $14{,}34 \pm 0{,}14$, $14{,}79 \pm 0{,}12$, $15{,}12 \pm 0{,}14$, $15{,}24 \pm 0{,}18$, $15{,}94 \pm 0{,}14$, $16{,}15 \pm 0{,}16$, $16{,}30 \pm 0{,}21$.

Wesentliche Unterschiede in der Sklerotienbildung auf der Wirtspflanze traten bei einem Infektionsversuch mit 2 in Agarkulturen morphologisch gleichen Biotypen, einem aus Rotklee und einem aus Schwedenklee, hervor (Tabelle 1).

Tabelle 1

Sklerotienbildung auf Klee bei 2 verschiedenen Biotypen von *S. trifoliorum*. 8019 Pflanzen

Wirtspflanzen	*Sclerotinia*biotyp aus					
	Rotklee			Schwedenklee		
	% getötete Pflanzen	Sklerotien je dm²		% getötete Pflanzen	Sklerotien je dm²	
		Anzahl	Gewicht mg		Anzahl	Gewicht mg
3 Rotkleestämme (9 Beobachtungen je Pilzbiotyp) . . .	63,4 ± 7,1	1,3 ± 0,8	6,1 ± 4,2	98,3 ± 0,5	46,3 ± 7,7	727,2 ± 170,8
3 Schwedenkleestämme (9 Beobachtungen je Pilzbiotyp)	55,3 ± 7,6	0,2 ± 0,2	1,1 ± 1,1	91,3 ± 4,1	33,2 ± 4,7	435,0 ± 116,4

Kein Zeichen von einer Differenzierung in formae speciales ist zu sehen; der aus Schwedenklee herstammende Biotyp ist nur stärker pathogen (etwa 1,5 mal) als der andere, aber daneben ist seine Fähigkeit, Sklerotien zu bilden, viel größer (etwa 50 mal). Diese Methode, verschiedene *Sclerotinia*biotypen zu unterscheiden, kann infolge ihres Zeitanspruches selbstverständlich keine praktische Bedeutung bekommen. Es ist aber klar, daß man bei der Beurteilung des allgemeinen pathogenen Wertes eines *Sclerotinia*biotyps nicht nur auf die Aggressivität, sondern auch auf die Unterschiede in der Fähigkeit, auf der Wirtspflanze Sklerotien zu bilden, Rücksicht nehmen muß.

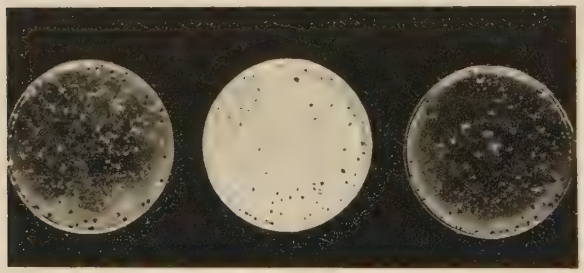


Abb. 85
Interbiotypische Mikrokonidienbildung. Die linke Platte geimpft mit etwa 1000 Ascosporen aus einem Biotyp von *S. trifoliorum*; die rechte mit etwa 1000 Ascosporen aus einem anderen Biotyp derselben Art; die mittlere Platte mit einer Mischung von etwa 500 + 500 aus beiden Biotypen

Bei vergleichenden Züchtungen verschiedener Herkünfte von *S. trifoliorum* auf Nähragar treten in der Regel nur unbedeutende und schwer definierbare Unterschiede im Aussehen der Kulturen auf. In mehreren Fällen, auch in solchen, in denen das Material von verschiedenen Wirtspflanzen herrührt, können überhaupt keine morphologischen Unterschiede zwischen Biotypen notiert werden, die laut anderen Versuchen physiologisch ungleich sind.

Für eine detaillierte Analyse der Variation innerhalb der Art kann dagegen die Tatsache zugrunde gelegt werden, daß bei Mischung von Ascosporen verschiedener Biotypen auf Nähragar eine deutliche Vermehrung der Mikrokonidienbildung eintritt (Abb. 85) oder besser, daß bei Anbau von verschiedenen Biotypen auf derselben Agarplatte markante weiße Linien von Mikrokonidien in der Zusammenwachszone nach Anastomosierung der verschiedenen Myzelien entstehen (Abb. 87, 88).

Viele Tatsachen sprechen dafür, daß diese Bildung von Demarkationslinien nicht auf einem zufälligen und vorübergehenden physiologischen Zustand der Myzelienplasmen beruht, sondern daß sie als ein sicheres Zeichen genotypischer Verschiedenheit der zusammenwachsenden Myzelien aufgefaßt werden muß. Bei Kombinationen zwischen morphologisch gleichen Stämmen oder Biotypen, von denen man z. B. infolge verschiedener Herkunft vermuten kann, daß sie genotypisch verschieden sind, trifft regelmäßig Demarkationslinienbildung unter der Voraussetzung ein, daß die Myzelien wirklich zusammenwachsen und anastomosieren, was im vorliegenden Material immer der Fall war. Die Bildung von Demarkationslinien bleibt ebenso regelmäßig aus bei Kombinationen zwischen Einzelascosporenkulturen aus demselben homokaryotischen Apothecium, wie zwischen solchen Kulturen und Subkulturen aus dem Sklerotium, von welchen das Apothecium abstammt, so wie zwischen Einzelascosporenkulturen verschiedener Apotheciengenerationen innerhalb einer reinen Linie und endlich auch zwischen fertilen und sterilen Ascosporennachkommen desselben homokaryotischen Apotheciums. Diese Beobachtungen machen es sehr wahrscheinlich, daß die Linienreaktion ein Ausdruck für genotypische Verschiedenheit ist; das Ausbleiben der Reaktion zeigt aber nur mit weniger Wahrscheinlichkeit, daß die unbekannten Myzelien genotypisch gleich sind. Wenn also nur der positive Teil dieser Annahme ziemlich sicher ist, so geht doch aus den Ergebnissen der unten beschriebenen Analysen von Feldmaterial hervor, daß auch der negative Teil der Annahme in vielen, vielleicht in allen Fällen zuverlässig ist.

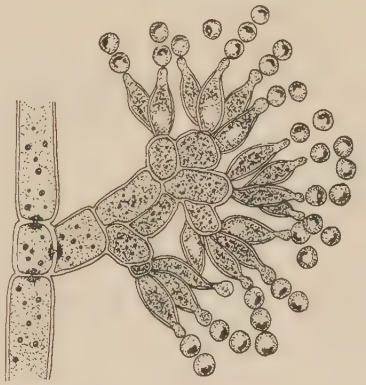
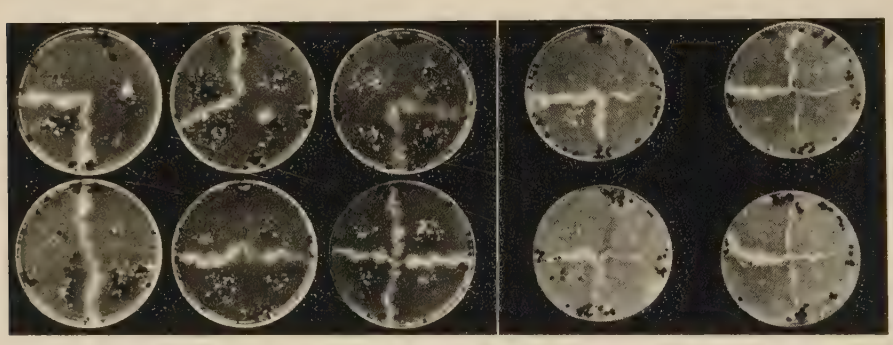


Abb. 86
Mikrokonidien aus einer Agarkultur. 1200mal

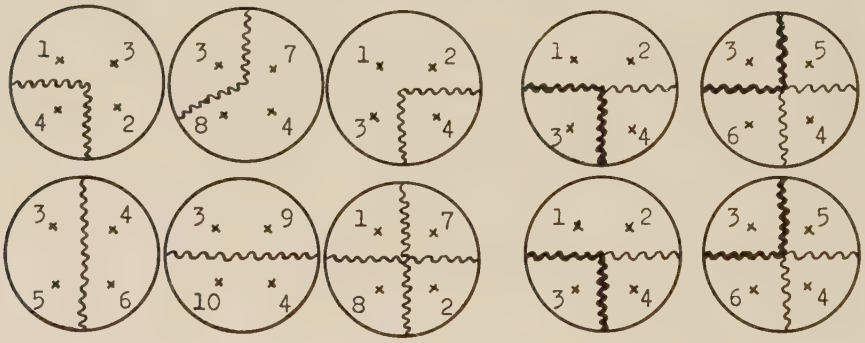
Bei Kombinationszüchtungen auf Nähragar mit vielen *Sclerotinia*stämmen aus einem begrenzten Areal (etwa 1000 m² in einem Kleefelde) bilden diese nämlich im allgemeinen nicht alle Demarkationslinien miteinander, sondern ein kleinerer Teil reagiert nicht gegenseitig. Die letztgenannten Stämme sind in der Regel nahe beieinander, in einer Entfernung von einigen Zentimetern bis einigen Metern isoliert worden. Es ist mit Rücksicht auf die homokaryotische Selbstfertilität und die Verbreitungsbiologie des Pilzes nicht unwahrscheinlich, daß diese Stämme genotypisch identisch sind und demzufolge keine Demarkationslinien miteinander bilden.

Es kommt im vorliegenden Material keine Aversion zwischen den Myzelien verschiedener Biotypen vor, was z. B. bei *Diaporthe perniciosa* der Fall ist (Cayley 1923). Es scheint auch nicht notwendig zu sein, eine Gegenwart von spezifischen toxischen Substanzen bei den *Sclerotinia*biotypen anzunehmen; dagegen besteht diese Annahme bei der Linienbildung zwischen Myzelien gewisser anderer Pilze (Porter 1924, Schreiner 1931). Bei *S. trifoliorum* liegt es am nächsten, die vermehrte interbiotypische Mikrokonidienbildung in den Demarkationslinien als eine Folge der plötzlichen Mischung von biotypen-

fremden, physiologisch ungleichen Plasmen und Kernen in den Hyphenzellen nach den Anastomosierungen zu erklären. Eine entschiedene, in erster Reihe rein mechanische Bedingung für die Manifestierung dieser interbiotypischen Reaktion ist, daß die betreffenden Hyphenzellen keine Gelegenheit zum nachfolgenden, ungehemmten, vegetativen Wuchs bekommen; ist diese Hemmung nicht vorhanden, können heterokaryotische Myzelien auswachsen, die als stabile Miktohaplonten ohne vermehrte Mikrokonidienbildung erscheinen.



Schema der Impfung



87 88

Abb. 87—88

Beispiele für Einzelsporenkombinationskulturen aus heterokaryotischen Apothecien. 87: Zwei Reaktionstypen, a: 1, 2, 3, 5, 9 und b: 4, 6, 7, 8, 10 (Apothecium Nr. 68 vgl. Tabelle 3). 88: Reaktionstypus a: 1, 2; b: 3; c: 4; d: 5 und e: 6. Noch 2 Typen wurden aus diesem Apothecium isoliert. Außerdem kamen mehrere Repräsentanten der Reaktionstypen b und d vor (Apothecium aus Åkarp)

Die Bildung von Demarkationslinien bei *S. trifoliorum* zeichnet sich durch verschiedene Intensität aus. Die Intensität des Reaktionstypus ist vor allem an den Biotyp gebunden, also nicht allein an die Verschiedenheit zwischen 2 Biotypen. Es gibt somit keine Korrelation zwischen der Reaktionsintensität und der Größe der geographischen Entfernung verschiedener Herkünfte; stark und schwach reagierende Biotypen können nebeneinander aus demselben Felde isoliert werden und sogar aus demselben heterokaryotischen Apothecium (Abb. 88). In den Myzelkombinationen (etwa 3200) des vorliegenden Materials, das hauptsächlich morphologisch gleiche oder sehr ähn-

liche Biotypen umfaßte, wurde kein Fall von ganz myzelfreier Zone zwischen 2 Biotypen beobachtet. Nach Angabe von Nicolaisen et al. (1940) kann dies ausnahmsweise zwischen morphologisch unähnlichen Biotypen innerhalb der Art vorkommen.

Analysen von Einzelascosporenkulturen aus Apothecien, aufgezogen aus im Felde isolierten Sklerotien, zeigen in den meisten Fällen homogene Sporennachkommenschaft (keine Demarkationslinien zwischen den Kulturen); in einigen Fällen aber heterogene Nachkommenschaft (Demarkationslinien zwischen größeren oder kleineren Teilen der Kulturen). Die Verschiedenheiten und Gleichheiten zwischen den Einzelascosporenkulturen in den letztgenannten partiell heterogenen Fällen verhalten sich auch bei Prüfung von sexuell aber autogam gebildeten Ascosporennachkommen der verschiedenen Myzelien konstant. Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß die im Felde isolierten Sklerotien und Apothecien mit heterogener Sporennachkommenschaft kaum auf eine andere Weise gedeutet werden können als daß sie heterokaryotisch sind.

2. Analysen von Feldmaterial

Die Resultate der Analysen durch Kombination von Einzelascosporenkulturen auf Agar innerhalb von 5 Gruppen *Sclerotinia*stämmen sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2

Analyse einiger Gruppen von *Sclerotinia*stämmen

Gruppe	Herkunft	Anzahl Stämme			Isoliert als
		Untersucht	Verschiedene	Heterokaryot.	
1	22 verschied. Standorte (Schwed. Dänem. USA.)	22	22	—	Sklerotien
2	Svalöv (Schonen)	28	21	5	Apothecien
3	Svalöv (Schonen)	16	11	7	Sklerotien
4	Dalby (Schonen)	10	9	0	Apothecien
5	Hörby (Schonen)	10	6	1	Apothecien

In Gruppe 1 wurden in sämtlichen Kombinationen Demarkationslinien gebildet und somit alle geprüften Stämme als genotypisch verschieden gedeutet, was mit Rücksicht auf ihre verschiedene Herkunft nicht unwahrscheinlich ist. In den Gruppen 2—5 blieben Demarkationslinien zwischen einigen der Isolaten aus, die in der Regel nahe beieinander isoliert worden waren. Infolge der allgemeinen Auseinandersetzung im vorigen Abschnitt können diese Isolate mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit als genotypisch identisch gedeutet werden.

Die Ascosporennachkommen aus einem Apothecium von jedem der heterokaryotischen Stämme in Gruppe 3 wurden näher analysiert (Tabelle 3). Die Frequenzen der einzelnen Biotypen dieser Analysen gewähren an sich keine sichere Grundlage für eine detaillierte genetische Analyse, da in diesem Falle die Elternbiotypen unbekannt sind. Es ist auch zu bemerken, daß die Resultate

der zytologischen Untersuchungen die theoretische Möglichkeit nicht ausschließen, daß mehr als zweierlei genotypisch verschiedene Kerne in ein heterokaryotisches Feldsklerotium eingehen können und daß also die Dikaryophase des herauswachsenden Apotheciums aus ungleichwertig allogamen ascogenen Hyphen bestehen kann. Das Vorkommen von vielen, dem Reaktionstypus nach gleichen und somit wahrscheinlich auch genotypisch gleichen Ascosporen in einer so begrenzten Anzahl wie 10 aus jedem Apothecium deutet jedoch darauf hin, daß die Anzahl der auf diese Weise erreichbaren Gendifferenzen innerhalb der Population in ein und demselben Standort nicht sehr groß ist.

Tabelle 3

Analyse von 7 heterokaryotischen *Sclerotinia*stämmen von Svalöv (Gruppe 3 in Tab. 2)

Stamm	Anzahl Einzelsporenkulturen	Anzahl Biotypen	Anzahl Biotypen mit				
			1	2	3	4	5
			Individuen				
65	10	5	1	3	1	—	—
66	10	7	5	1	1	—	—
68	10	2	—	—	—	—	2
70	10	5	2	1	2	—	—
74	10	3	—	—	2	1	—
76	10	7	4	3	—	—	—
77	10	5	2	1	2	—	—

Die Resultate dieser Analysen nebst einigen anderen gleichwertigen (Björling 1942, S. 103—110) zeigen mit einem hohen Grade von Wahrscheinlichkeit, daß der Biotypenreichtum innerhalb der Art erheblich ist, sowohl zwischen verschiedenen als auch in demselben Standort (Kleefeld). Mit etwas geringerer Sicherheit geht ferner aus diesen Analysen hervor, daß einzelne Biotypen von vielen verschiedenen Individuen vertreten sein können, die in der Regel nahe zusammen, aber bisweilen auf wenigstens 100 m Entfernung voneinander wachsen. Die Art *S. trifoliorum* besteht also aus einer Menge physiologisch ungleicher, aber oft morphologisch schwer zu unterscheidender oder identischer Biotypen. Diese sind selbstfertil und in der Regel homokaryotisch. Außer diesen reinen Linien, welche die Hauptmasse in den Populationen zu bilden scheinen, kommen heterokaryotische Sklerotien und Apothecien in variierender Häufigkeit vor. Der Formenreichtum in den Nachkommen der letzteren trägt offenbar dazu bei, die erhebliche Variation innerhalb der Art zu bewahren.

3. Kreuzungsversuche mit einigen Biotypen

In den Demarkationslinien auf Nähragar zwischen 2 verschiedenen Biotypen werden sehr selten Sklerotien gebildet. Wenn die 2 Biotypen auf denselben Punkt im Zentrum der Nähragarplatte geimpft werden, zeichnen sich die auswachsenden Kulturen von breiteren weißen Sektoren durch reichliche Mikrokonidienbildung aus (Abb. 89). In diesen Sektoren, die zweifellos von derselben Art wie die Demarkationslinien sind, werden häufig Sklerotien gebildet, die sich bei Analyse der Ascosporen auswachsender Apothecien entweder als homo-

karyotisch und gleich einem der Elternbiotypen oder aber als heterokaryotisch erweisen.

In einer Versuchsreihe wurden 3 Kreuzungen zwischen verschiedenen *Sclerotinia*biotypen aus Svalöv und Weibullsholm (Entfernung 16 km) ausgeführt und 10 Apothecien analysiert. 5 von diesen (Nr. 1, 4, 5, 7, 8) waren homokaryotisch und gleich einem der Elternbiotypen; von den 5 übrigen heterokaryotischen Apothecien (Nr. 2, 3, 6, 9, 10) wurden 11, 10, 5, 10 und 9 Einzelascosporenkulturen angelegt. Kombinationen innerhalb dieser letzten 5 Gruppen zusammen mit Prüfungen gegen die 2 in Frage kommenden Elternbiotypen resultierten in Bildung von Demarkationslinien in allen Fällen, mit Ausnahme von einer Kombination zwischen 2 Einzelascosporenkulturen (aus Apothecium Nr. 6), die aus demselben Ascus stammten. Es ist also wahrscheinlich, daß in den heterokaryotischen Apothecien wenigstens 11, 10, 4, 10 bzw. 9 neue Biotypen entstanden waren. Zwischen diesen fünf Gruppen von Biotypen wurde keine Prüfung ausgeführt.

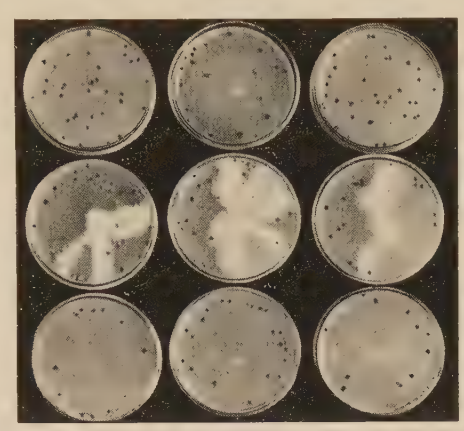


Abb. 89
Interbiotypische Mikrokonidien- und Sklerotienbildung. Die drei obersten Platten geimpft im Zentrum mit Myzel aus einem Biotyp von *S. trifoliorum*; die drei untersten ebenfalls mit einem anderen Biotyp derselben Art. Die Platten in der Mittelreihe wurden auf dieselbe Weise geimpft, aber mit Myzelien aus beiden Biotypen

In einem anderen Versuch wurde ein heterokaryotisches Apothecium aus einer Mischkultur von 2 verschiedenen Biotypen aus Svalöv analysiert, die auf 10 m Entfernung isoliert worden waren. Sämtliche 9 Einzelascosporenkulturen bildeten Demarkationslinien mit beiden Elternbiotypen. Analysen innerhalb der Kulturen zeigten 5 neue Biotypen, durch 3, 2, 2, 1 bzw. 1 Individuen vertreten; diese Biotypenvariation war also von derselben Größe wie in heterokaryotischen Feldapothecien desselben Ortes (Tabelle 3). Die größere Biotypenvariation in der vorigen Versuchsreihe ist wahrscheinlich als ein Ausdruck größerer genotypischer Verschiedenheit zwischen den Elternbiotypen zu deuten.

Es ist bemerkenswert, daß in keinem der obengenannten Versuche einer der reinen Elternbiotypen in den Sporennachkommen auftrat. Bei einer rein zufallsmäßigen Verteilung der Kerne der beiden Ausgangsbiotypen in der dikaryotischen Phase und unter Voraussetzung von gleich großer Wachstumsgeschwindigkeit bei autogamen und allogamen ascogenen Hyphen sollte man in den Sporennachkommen von heterokaryotischen Apothecien ein Auftreten jeder der beiden Elternbiotypen in einer Häufigkeit von mindestens 25% erwarten. Die 25% übersteigenden Fälle müssen von Abspaltungen der reinen Ausgangsbiotypen von den heterozygotischen Verschmelzungskernen in den Asci herstammen. Die Häufigkeit solcher Fälle nimmt jedoch, wie bekannt, mit wachsender Anzahl von Gendifferenzen sehr schnell ab und würde wahrscheinlich bei den hier in Frage kommenden Versuchen nicht bemerkbar sein. Die Individuenanzahl der Nachkommen der Kreuzungsapothecien ist zwar nicht so umfassend (54), aber doch groß genug, um eine deutliche Abweichung von dem oben umrissenen Schema mit dieser erheblichen Reproduktion von Elternbiotypen zu zeigen. Da rein plasmatisch dirigierte Einflüsse auf den Reaktionstypus laut anderer Versuche (Björling 1942, S. 113—117) weniger wahrscheinlich

sind, ist es möglich, daß in den Kreuzungsprodukten ein Heterosiseffekt der einen oder anderen Art vorliegt, entweder in Form von Certation zwischen allogamen und autogamen ascogenen Hyphen zum Vorteil der ersteren oder in der Form, daß autogame ascogene Hyphen überhaupt nicht in den heterokaryotischen Apothecien gebildet werden. Um diese Frage zu lösen, müssen aber bedeutend mehr umfassende genetische Untersuchungen von Kreuzungen zwischen genau bekannten Biotypen ausgeführt werden.

V. Die Pathogenität des Pilzes

1. Infektionsversuche an Kleestämmen

Bei Infektionsversuchen mit *S. trifoliorum* zum Nachweis verschiedener pathogener Rassen ist es mit einer gewissen Unsicherheit verbunden, den Kleestamm als Wirtspflanzeneinheit anzuwenden. Jeder Kleestamm enthält, wie bekannt, eine große Anzahl verschiedener Biotypen, und diese Heterogenität innerhalb des Stammes ist außerdem durch natürliche Selektion von Jahr zu Jahr nicht konstant. Auch wenn man die Infektionsversuche auf ein und dasselbe Jahr beschränkt oder dieselbe Samenpartie eine Reihe von Jahren anwendet, kann man nicht im voraus sicher sein, verschiedene Resultate von Infektionen auf demselben Kleestamm durch 2 qualitativ verschiedene Rassen von *S. trifoliorum* zu bekommen, wenn diese z. B. quantitativ ungefähr gleich pathogen sind, aber verschiedene Kleebiotypen innerhalb des Stammes angreifen. Entscheidende Resultate können jedoch auch mit Stamminfektionsversuchen erreicht werden, wenn diese mit vielen Kleestämmen ausgeführt werden und die Anzahl Pflanzen von jedem Stamm groß ist. Tabelle 4 zeigt einen derartigen in Svalöv ausgeführten Versuch, in welchem 12 Rotkleestämme, die in 108 Holzkisten in 3 Mistbeete gesät wurden, mit 3 aus dem südlichen (Svalöv), mittleren (Ultuna) und nördlichen Schweden (Luleå) von Rotklee isolierten *Sclerotinia*stämmen infiziert wurden. Nachherige Analysen der *Sclerotinia*stämme ergaben, daß alle 3 homokaryotisch waren, weshalb sie als reine Biotypen anzusehen sind.

Tabelle 4

Infektionsversuch auf 12 Rotkleestämmen mit 3 Biotypen von *S. trifoliorum* 23 461 Pflanzen

Kleestamm Nr.	*Sclerotinia*biotyp aus Svalöv: überlebende Pflanzen %	Svalöv: Relativzahlen	Ultuna: überlebende Pflanzen %	Ultuna: Relativzahlen	Luleå: überlebende Pflanzen %	Luleå: Relativzahlen
1	9,2 ± 2,04	44	2,3 ± 1,09	35	5,3 ± 3,71	38
2	22,3 ± 4,28	107	2,3 ± 1,68	35	7,0 ± 1,51	50
3	20,8 ± 1,68	100	6,5 ± 0,19	100	14,1 ± 2,59	100
4	24,0 ± 1,03	115	3,3 ± 1,23	51	6,5 ± 2,41	46
5	10,1 ± 1,90	49	2,7 ± 1,25	42	8,4 ± 2,82	60
6	7,8 ± 0,77	38	1,5 ± 1,10	23	2,7 ± 0,63	19
7	9,7 ± 2,10	47	0,9 ± 0,71	14	4,8 ± 1,04	34
8	17,3 ± 1,97	83	0,5 ± 0,47	8	2,3 ± 1,18	16
9	12,5 ± 1,79	60	3,1 ± 1,15	48	2,7 ± 1,04	19
10	19,4 ± 4,94	93	1,2 ± 1,23	19	2,3 ± 0,24	16
11	8,8 ± 1,44	42	0,7 ± 0,35	11	0,8 ± 0,42	6
12	6,0 ± 2,32	29	0,4 ± 0,40	6	0,3 ± 0,33	2

Aus Tabelle 4 geht erstens hervor, daß deutliche Resistenzunterschiede der infizierten Kleestämme vorkommen. Die Richtigkeit der Resultate wird dadurch bestätigt, daß gleichartige Resistenzunterschiede, wie in den mit dem *Sclerotinia*biotyp aus Svalöv infizierten Kleestämmen, auch in Feldversuchen auf kleekrebsverseuchtem Boden in Svalöv beobachtet wurden. Eine statistische Analyse zeigt, daß die Resistenzunterschiede zwischen vielen der Kleestämme signifikant sind.

Aus Tabelle 4 geht ferner hervor, daß die beiden aus dem mittleren und nördlichen Schweden stammenden *Sclerotinia*biotypen stärker pathogen sind als der aus Svalöv isolierte (dieser Unterschied ist auch statistisch sicher, aber nicht der zwischen den beiden erstgenannten). Da die Pathogenitätsdifferenz in diesem Falle rein quantitativ ist, kann sie nicht als entscheidender Beweis für einen genotypisch bedingten Unterschied in der Aggressivität der *Sclerotinia*biotypen angesehen werden, da solche quantitative Abstufungen wahrscheinlich rein modifikativ sein können. Jedoch liegen wirkliche Aggressivitätsunterschiede wenigstens zwischen dem *Sclerotinia*biotyp aus Svalöv und den beiden nördlichen vor, was aus den qualitativ verschiedenen Angriffstypen auf dem Kleesortiment hervorgeht (Abb. 90). Im Diagramm sind die Relativzahlen der prozentischen Durchschnitte überlebender Pflanzen in steigender Reihenfolge für das Infektionsmaterial aus Svalöv geordnet, und die quantitative Pathogenität der *Sclerotinia*biotypen auf dasselbe Niveau im Verhältnis zum Rotkleestamm Nr. 3 gebracht. Wenigstens 2 verschiedene Angriffstypen treten klar hervor. Der relativ gleichartige Verlauf der Kurven von den beiden nördlichen *Sclerotinia*biotypen deutet auf eine gewisse Ähnlichkeit in der Aggressivität; diese Biotypen sind indessen, nach Analysen auf Nähragar (Bildung von Demarkationslinien) zu urteilen, genotypisch nicht identisch, und es ist wahrscheinlich, daß ein deutlicherer Unterschied im Angriffstypus auf einem geeigneteren Testsortiment hervortreten würde.

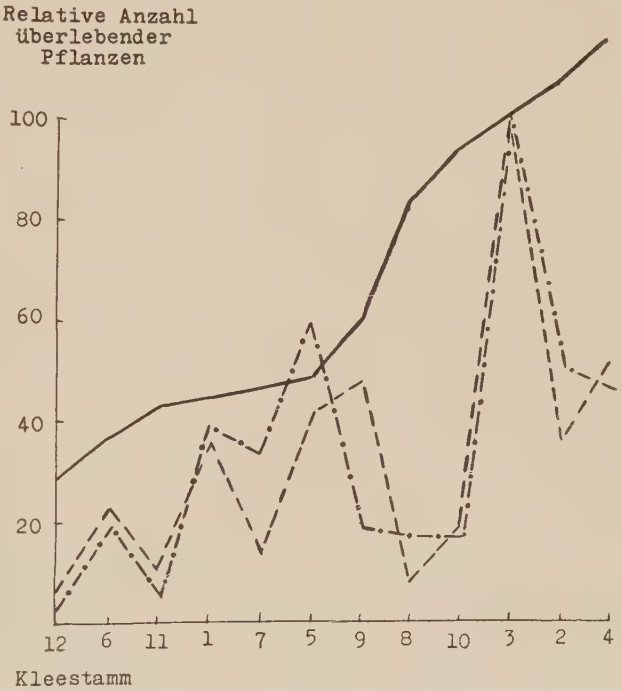


Abb. 90
Diagramm, das verschiedene Angriffstypen von 3 Biotypen von *S. trifoliorum* auf 12 verschiedenen Rotkleestämmen zeigt. *Sclerotinia*biotyp aus Svalöv ————; aus Ultuna — — —; aus Luleå — · — · — · —

Sehr umfassende Infektionsversuche mit verbesserter Technik vor allem an verschiedenen Rotkleestämmen, aber auch an anderen empfänglichen Hülsengewächsen sind von Frandsen (1946) ausgeführt. Durch diese wird bestätigt, daß teils erhebliche Resistenzunterschiede zwischen den Wirtspflanzenstämmen vorliegen und teils *S. trifoliorum* in einer großen Anzahl pathogen verschiedener Biotypen auftritt. Die letzteren sind aber nicht in formae speciales gruppiert; so infiziert z. B. ein *Sclerotinia*biotyp aus Rotklee in ebenso hohem Maße Schwedenklee und umgekehrt. Frandsen hat ferner zeigen können, daß, in Übereinstimmung mit den Resultaten früherer schwedischer Resistenzzüchtungsarbeiten (Sylvén 1936, Nilsson-Leissner und Nilsson 1940), eine Selektion und Vermehrung von überlebenden, widerstandsfähigen Pflanzen relativ schnell zu einer durchschnittlichen Zunahme der Sortenresistenz gegen Kleekrebs führt und daß diese Resistenzzunahme auch mit hoher Ertragsfähigkeit auf nichtinfiziertem Boden kombiniert werden kann.

2. Infektionsversuche an Kleeklonen

Als Wirtspflanzeneinheit bei Infektionsversuchen mit *S. trifoliorum* ist genetisch einheitliches Kleematerial, d. h. Klonpflanzen besser geeignet als Kleestämme. Durch Stecklingsvermehrung können auch von einzelnen Wirtspflanzen Klone hervorgebracht werden, die dann von Jahr zu Jahr in beliebig großer Individuenzahl gehalten werden können.

In einem Gewächshausversuch wurde die Myzelentwicklung zweier *Sclerotinia*biotypen bei verschiedenen Temperaturen auf abgeschnittenen gleich alten Blättern von einigen Rotkleeklonen mit der Entwicklung derselben Biotypen auf Nähragar verglichen. Als Maß des Myzelzuwachses wurde die Zeit von der Infektion bzw. Impfung bis zur Sklerotienbildung verwendet (S. 130). Aus den Diagrammen Abb. 91 und 92, die mit statistisch sicher verschiedenen Durchschnittswerten für die Temperaturen 5°, 10°, 15° und 20°C aufgestellt wurden, geht hervor, daß die Temperaturabhängigkeit des Myzelzuwachses auf Klee und auf Nähragar im großen und ganzen den gleichen Verlauf aufweist. Aus diesem Versuch, zusammen mit Beobachtungen an der Ausbreitungsgeschwindigkeit des Myzels auf den Kleeblättern in Mistbeetversuchen bei verschiedenen Temperaturen, aber gleichmäßiger hoher Luftfeuchtigkeit kann man schließen, daß das wirkliche Temperaturoptimum für die Entwicklung auf der Wirtspflanze ungefähr an derselben Stelle wie das Kulturoptimum (15—20°C) liegt und nicht bei so niedriger Temperatur (5—10°C) wie es bei den kräftigsten Kleekrebsangriffen in der Natur der Regel ist. *S. trifoliorum* kann also nicht ohne weiteres in die *Gibberella-Thielavia*gruppe von pilzparasitären Krankheiten (Fischer-Gäumann 1929) einrangiert werden, welche sich dadurch auszeichnet, daß die Temperaturoptima des Parasiten in Kultur und auf der Wirtspflanze bedeutend verschieden sind. Eine gewisse thermisch bedingte Depression in der Resistenz der Wirtspflanze kann jedoch auch in dem *Sclerotinia*-Kleekomplex festgestellt werden, indem die Myzelentwicklung bei niedrigeren Temperaturen verhältnismäßig schneller auf Klee als in Kultur vor sich geht (Abb. 91, 92). Die Resistenzhöhe der Wirtspflanze bei der für

den Pilz kulturoptimalen Temperatur ist aber in diesem Falle mit hoher Luftfeuchtigkeit nicht groß genug, um die Myzelentwicklung in solchem Grade zu hemmen, daß 2 deutlich verschiedene Temperaturoptima gebildet werden, ein niedrigeres für den Zuwachs auf der Wirtspflanze und ein höheres für den Zuwachs in Kultur.

Daß sich die größte Verbreitung des Pilzes in der Natur bei einer um so viel niedrigeren Temperatur als der kulturoptimalen vollzieht, dürfte auf verschiedenen zusammenwirkenden Umständen beruhen. Das reichlichere Vorkommen von Infektionsmaterial und insbesondere die höhere relative Luftfeuchtigkeit bei diesen niedrigeren Temperaturen scheinen die wichtigsten dieser Faktoren zu sein. Kennzeichnend für die schweren Winterangriffe ist nämlich, daß der Pilz durch kräftiges, hauptsächlich extramatrikales Wachsen und durch Kontaktinfektionen sich von Pflanze zu Pflanze ausbreitet. Die äußere Voraussetzung für die Entwicklung der charakteristischen, der Luft frei ausgesetzten Myzelmatten in den Kleefeldern während der Wintermonate scheint nicht nur genügend hohe Luftfeuchtigkeit unten im Kleebestand selbst, sondern auch oberhalb desselben zu sein. Gewächshausversuche mit Myzelinfektionen auf Kleeklonenpflanzen bei gleicher Temperatur (11 °C), aber variierender Luftfeuchtigkeit, zeigen, daß sich die angefangene Myzelentwicklung auf den Kleeblättern bei 89—95 % und 100 % Luftfeuchtigkeit kräftig fortsetzt, bei 70—90 % beinahe und bei 60—80 % vollständig abgebrochen wird. An 90 % herankommende Luftfeuchtigkeiten kommen in Schweden nur während der Wintermonate vor. Periodenweise ist die Luftfeuchtigkeit jedoch oft mehrere Tage lang, z. B. bei Nebel während Oktober—November und im März höher als 90 %, und gerade bei solcher Witterung sind die sich am schnellsten ausbreitenden Kleekrebsangriffe zu bemerken. Während Dezember — Februar ist in der Regel die niedrige Temperatur der beschränkende Faktor. Hohe Temperaturen während dieser Monate können ungewöhnlich kräftige Winterangriffe mit sich führen.

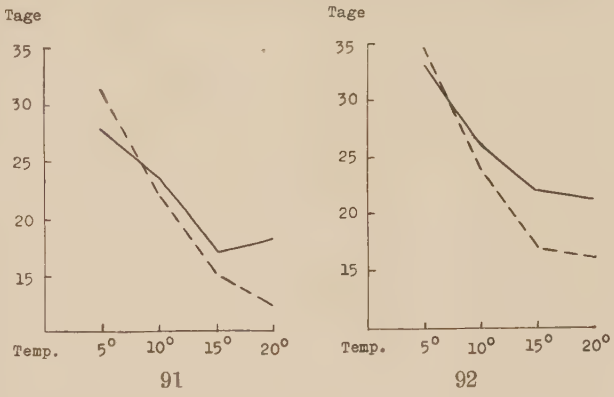


Abb. 91—92
Diagramm über die Zeit für die Sklerotienbildung von zwei *Sclerotinia*biotypen bei verschiedenen Temperaturen. 91: Biotyp aus Svalöv auf Rotkleeklon K 22 ——— und auf Nähragar — — —. 92: Biotyp aus Svedberg auf Rotkleeklon K 22 ——— und auf Nähragar — — —

VI. Bemerkungen über die Voraussetzungen der Züchtung kleekrebsresistenter Wirtspflanzenstämme

Die Resultate der vorliegenden Untersuchungen tragen dazu bei, eine für die Resistenzzüchtung von Klee und anderen Hülsenfrüchten gegen Kleekrebs wichtige Frage hervorzuheben, nämlich die Variation innerhalb der pathogenen Rassen des Krankheitserregers. Obwohl die meisten der vorgenommenen Analysen nicht direkt die Variabilität der pathogenen Eigenschaften berühren, so ist es doch vom genetischen Gesichtspunkt aus offenkundig, daß prinzipiell die gleichen Variationsverhältnisse zwischen einzelnen Biotypen sowie zwischen den größeren oder kleineren Gruppen von *Sclerotinia*biotypen gelten, welche, abhängend von der Beschaffenheit der Testsortimente, als einzelne pathogene Rassen klassifiziert werden können. Da aus den oben referierten Versuchen mit Gewißheit hervorgeht, daß neue Biotypen durch Kreuzungen gebildet werden können, ist es ebenfalls klar, daß neue pathogene Rassen auf dieselbe Weise entstehen können. Diese Feststellung widerspricht der von Nicolaisen et. al. (1940) vertretenen Auffassung, welche sich auf eine geringere Anzahl negativer Kreuzungsresultate gründet und darauf hinausläuft, daß man bei der Resistenzzüchtung gegen den Kleekrebs mit einer derartigen Neubildung von pathogenen Rassen bei *S. trifoliorum* nicht zu rechnen braucht (l. c. S. 621—622).

Obwohl das Problem der Resistenzzüchtung außerhalb des Rahmens der vorliegenden Untersuchungen liegt, läßt es sich nicht vermeiden, dieser Frage einige weitere Worte zu widmen. Die Tatsache, daß man mit der Bildung neuer pathogener Rassen des Pilzes durch Kreuzungen zwischen bereits vorhandenen rechnen muß, ist offenbar eine potentielle Gefahr für die schon vorher komplizierte Resistenzzüchtung gegen *S. trifoliorum*. Hiermit ist natürlich nicht gesagt, daß eine solche Züchtung unmöglich oder in der Praxis undurchführbar wäre. Im Gegenteil braucht man nur auf die beachtenswerten Züchtungsresultate der gegen Kleebrebs hochresistenten Kleestämme hinzuweisen, die bereits bei verschiedenen schwedischen und dänischen Zuchtanstalten erreicht worden sind (Sylvén 1936, Nilsson-Leissner und Nilsson 1940, Gelin und Schwanbom 1941, Frandsen 1946). Das Ausgangsmaterial bei den Züchtungsarbeiten besteht aus einigen dazu besonders passenden Lokalstämmen (namentlich von Rotklee), welche offenbar Ergebnisse der resistenzzüchtenden Einwirkung der natürlichen Selektion sind.

Daß die Züchtungsarbeiten, trotz der erheblichen Variabilität des Krankheitserregers zu diesen bestehenden Resultaten geführt haben, scheint in erster Linie auf die, aller Wahrscheinlichkeit nach unspezifische Natur der Resistenz der widerstandsfähigen Biotypen der Wirtspflanzen zurückzuführen zu sein.

Die ausgeprägte Heterozygotie der einzelnen Pflanzen und die große Heterogenität der Stämme innerhalb der wichtigsten Wirtspflanzenart, Rotklee, erweitert auch die Möglichkeiten zur Auswahl von geeignetem Züchtungsmaterial viel mehr als bei Selbstbefruchtern, z. B. Weizen oder Hafer, was besonders von Jenkin (1945) hervorgehoben wird. In diesem Zusammenhang muß ferner der von Frandsen (1946) gezogene Schlußsatz erwähnt werden, daß *S. trifoliorum*

zwar in einer großen Anzahl ungleicher Rassen auftritt, aber die Verschiedenheit der Aggressivität dieser Rassen von so untergeordneter Bedeutung ist, daß sie ganz von den Resistenzdifferenzen der Kleestämme überflügelt wird. Diese Auffassung erscheint auf Grund der bis jetzt gesammelten Erfahrungen über den Kleekrebs im wesentlichen richtig zu sein, jedoch mit der Reservation, daß der Schlußsatz, bezüglich der Dominanz der Resistenzdifferenzen, nur innerhalb der natürlichen Anbaugebiete der betreffenden Kleestämme zutreffend ist. Nach schwedischen Erfahrungen werden Kleestämme, die im südlichen Teil des Landes hochresistent gegen Kleekrebs sind, beim Anbau im nördlichen Teil stark angegriffen, was wahrscheinlich in erster Linie auf eine durch die allgemeine Vitalitätsschwächung hervorgerufene Resistenzverminderung beruht und nur zum Teil durch das Vorhandensein von anderen Rassen des Erregers erklärt werden kann.

Die Natur der relativen Widerstandsfähigkeit gewisser Kleestämme ist bisher nicht klargelegt. Nach Beobachtungen von Infektionsversuchen und nach dem Krankheitsbild im Felde zu urteilen, sind als Ursachen des gewöhnlichen Typus von Widerstandsfähigkeit Befallsresistenz, Eindringungsresistenz und nekrogene Abwehrreaktion ausgeschlossen. Der Erreger ist ein ausgeprägter Perthophyt, der mit anscheinend gleich großer Heftigkeit Blätter, Blattstiele und Stengel von sowohl empfänglichen als auch widerstandsfähigen Kleepflanzen tötet. Nach einem starken und gleichmäßigen Angriff regeneriert aber ein größerer oder kleinerer Teil der Pflanzen eines widerstandsfähigen Stammes; von stark empfänglichen Stämmen sind dagegen oft sämtliche Individuen getötet. Die Anzahl potentieller Vegetationspunkte, die beim Zeitpunkt des Erlöschens des Angriffes durch veränderte Milieuverhältnisse (in der Regel im Frühjahr) zur Verfügung steht, ist also für die Größe der Widerstandsfähigkeit ausschlaggebend. Inwieweit dieses Vermögen, die Vegetationspunkte während des andauernden Krankheitsverlaufes intakt zu halten, sich auf eine Art von Ausbreitungsresistenz oder auf antitoxischen Abwehrreaktionen oder auf einen noch unbekannten Resistenztypus gründet, ist eine Frage, die bis auf weiteres offen gelassen werden muß.

Zitierte Literatur

Björling, K., 1939. Undersökningar rörande klöverrötan. I Infektionsförsök med *Sclerotinia trifoliorum*. Stat. Växtskyddsanst. Stockholm. Medd. **27**.

Björling, K., 1941. Zur Kenntnis der Kernverhältnisse im Ascus von *Ascobolus stercorarius*. Kungl. Fysiogr. Sällsk. i Lund Förh. **11**.

Björling, K., 1942. Undersökningar rörande klöverrötan. II Studier av utvecklingshistoria och variation hos *Sclerotinia trifoliorum*. Stat. Växtskyddsanst. Stockholm. Medd. **37**.

Cayley, D. M., 1923. The phenomenon of mutual aversion between monospore mycelia of the same fungus (*Diaporthe perniciosa* March.). Jour. Gen. **13**.

Coe, D. M., 1949. Observations on apothecial production by *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. trifoliorum*. Bull. Dep. Agric. Calif. **38**.

Dodge, B. O., 1927. Nuclear phenomena associated with heterothallism and homothallism in the Ascomycete *Neurospora*. Jour. Agric. Res. **35**.

Drayton, F. L., 1934. The sexual mechanism of *Sclerotinia Gladioli*. Mycologia **26**.

Drayton, F. L., 1937. The perfect stage of *Botrytis convoluta*. Mycologia **29**.

Fischer, E. und Gäumann, E., 1929. Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena.

Frandsen, K. J., 1946. Studier over *Sclerotinia trifoliorum* Erikss. Köbenhavn.
Gäumann, E., 1940. Neuere Erfahrungen über die Entwicklungsgeschichte der Ascomyceten. Zeitschr. f. Botanik **35**.
Gelin, O. och Schwanbom, N., 1941. Weibulls Resistenta Rödklöver. W. Weibulls Årsbok **36**. Landskrona.
Greis, H., 1938. Die Entstehung der Basidiomycetenschnallen aus den Ascomycetenhaken. Jahrb. Wiss. Bot. **86**.
Greis, H., 1941. Mutations- und Isolationsversuche zur Beeinflussung des Geschlechts von *Sordaria fimicola* (Rob.). Zeitschr. f. Bot. **37**.
Groves, J. W. and Drayton, F. L., 1939. The perfect stage of *Botrytis cinerea*. Mycologia **31**.
Guillermond, A., 1904. Recherches sur la karyokinèse chez les Ascomycètes. Rev. Gén. Bot. **16**.
Guillermond, A., 1905. Remarques sur la karyokinèse des Ascomycètes. Ann. Mycologici **3**.
Guillermond, A., 1911. Aperçu sur l'évolution nucléaire des Ascomycètes. Rev. Gén. Bot. **23**.
Gwynne-Vaughan, H. C. I. and Barnes, B., 1937. The structure and development of Fungi. Cambridge.
Henson, L. and Valleau, W. D., 1940. The production of apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. trifoliorum* in culture. Phytopathology **30**.
Jenkin, T. J., 1945. Diseases and pests at the Welsh Plant Breeding Station. Ann. Appl. Biol. **32**.
Kerl, I., 1937. Über Regenerationsversuche an Fruchtkörpern und andere entwicklungsphysiologische Untersuchungen bei *Pyronema confluens*. Zeitschr. f. Bot. **31**.
Kniep, H., 1929. Vererbungserscheinungen bei Pilzen. Bibliographia Genetica **5**.
Lohwag, H., 1927. Das Oogon als Wesensbestandteil der Geschlechtsorgane. Biologia Generalis **3**.
Martens, P., 1932. L'origine du „crochet" et de „l'anse d'anastomose" chez les Champignons supérieurs. Bull. Soc. Myc. France **48**.
Nicolaisen, W., Leitzke, B. und Witzig, I., 1940. Untersuchungen im Rahmen der Züchtung der Kleearten auf Widerstandsfähigkeit gegen Kleekrebs (*Sclerotinia trifoliorum* Erikss.). Phytopath. Zeitschr. **12**.
Nilsson-Leissner, G. and Nilsson, F., 1940. Herbage plant breeding in Sweden. Imp. Bur. Aberystwyth. Joint Publ. **3**.
Pape, H., 1937. Beiträge zur Biologie und Bekämpfung des Kleekrebses (*Sclerotinia trifoliorum* Erikss.). Arb. Biol. Reichsanst. **22**.
Pohjakallio, O., 1940. Untersuchungen über den Kleekrebs und seinen Anteil am Verschwinden des Klees in Kleegrasgemischen. Pflanzenbau **16**.
Porter, L., 1924. Concerning the characters of certain fungi as exhibited by their growth in the presence of other fungi. Amer. Jour. Bot. **11**.
Raymond, J. R., 1934. Contribution à la connaissance cytologique des Ascomycètes. Le Botaniste **26**.
Rehm, E., 1872. Die Entwicklungsgeschichte von *Peziza ciborioides* Fries. Diss. Göttingen.
Rudorf, W., 1937. Untersuchungen zur Züchtung kleekrebsresistenter Kleearten und Luzerne. Züchter **9**.
Schreiner, E. J., 1931. Two species of *Valsa* causing disease in Populus. Amer. Jour. Bot. **18**.
Sylvén, N., 1936. Die natürliche Auslese im Dienste der Rotkleezüchtung. Züchter **8**.
Wadham, S. M., 1925. Observations on clover rot (*Sclerotinia trifoliorum* Erikss.). The New Phytologist **24**.
Whetzel, H. H., 1937. *Septotinia*, a new genus of the Ciborioideae. Mycologia **29**.
Wilson, E. B., 1928. The cell in development and heredity. 3rd Ed. New York.
Wilson, I., 1937. A contribution to the study of the nuclei of *Peziza rutilans* Fries. Ann. Botany N. S. **1**.
Winge, Ø. and Laustsen, O., 1940. On a cytoplasmatic effect of inbreeding in homozygous yeast. C. R. Laboratoire Carlsberg. **23**.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr.

Von
Fritz Kobel, dipl. rer. nat.

Mit 13 Abbildungen

Inhaltsübersicht: Einleitung. — 1. Kapitel: Krankheitsverlauf, a) Infektion, b) Ausbreitung des Parasiten im Wirt, c) Erkrankung. — 2. Kapitel: Toxinproduktion, A. Herkunft und Beschreibung des Pilzmaterials; B. Testmethoden, 1. Welketest, 2. Antifungische Teste; C. Kulturbedingungen, 1. Einfluß der Temperatur, 2. Einfluß der Nährlösung, 3. Zusammenhang zwischen Myzelgewicht, Zuckerverbrauch und Aktivität; D. Isolierung der aktiven Stoffe, 1. Produktion größerer Mengen Kulturfiltrat, 2. Aufarbeitung der Kulturfiltrate, 3. Reinigung der Rohprodukte. — 3. Kapitel: Toxinwirkung, A. Toxizität gegen Pflanzen, 1. Wirkung des Kulturfiltrates, 2. Wirkung der sauren Substanz, 3. Wirkung der basischen Substanz, 4. Diskussion; B. Toxintransport, 1. Versuche mit Kulturfiltrat, 2. Versuche mit saurer Substanz, 3. Versuche mit basischer Substanz, 4. Diskussion. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Nectria cinnabarina (Tode) Fr. gehört zu den auffallendsten und häufigsten Bäume und Sträucher bewohnenden Pilzen. Er besiedelt als plurivorer Parasit fast sämtliche Laubholzbäume und Sträucher; vor allem und fast regelmäßig kommt er auf Ahorn, Ulme, Linde und *Ribes*arten vor. Im Frühjahr und Herbst findet man die roten Polster seiner Nebenfruchtform, *Tubercularia vulgaris* Fr., auf abgestorbenen Ästen und Zweigen. Früher wurde dieser Pilz als harmloser Saprophyt betrachtet. H. Mayr (1882) wies als erster auf die parasitischen Eigenschaften hin, und seither gehört *Nectria cinnabarina* zu den am besten untersuchten Pflanzenparasiten. Da die Rotpustelkrankheit bei den befallenen Pflanzen häufig Welkeerscheinungen bewirkt, erregte sie unsere Aufmerksamkeit, um so mehr, als in der Literatur einige Angaben auf eine toxigene Natur dieser Welke schließen lassen.

Es soll im 1. Kapitel eine kurze Übersicht über den Krankheitsverlauf an Hand von Literaturzitaten gegeben werden. Dabei wird hauptsächlich auf solche Publikationen Gewicht gelegt, die Angaben über Welkeerscheinungen und deren Ursachen enthalten.

1. Kapitel
Der Krankheitsverlauf

a) Die Infektion

Nectria cinnabarina bildet nur selten Perithezien. Viel häufiger findet man die Nebenfruchtform des Pilzes, *Tubercularia vulgaris* Fr. Als Infektionsmaterial kommen deshalb wohl vorwiegend die Konidien in Frage. Diese haften bei trockenem Wetter fest an den *Tubercularia*polstern und lassen sich in diesem Zustand nicht verbreiten. Bei Regenwetter quellen die Lager auf, und die Konidien werden in Wassertropfen verfrachtet. J. Behrens (1895) beobachtete Fliegen, die an solchen gequollenen Polstern Nahrung suchten, und nimmt an, daß sie als Krankheitsüberträger in Frage kommen könnten. Andere Angaben über zoochore Verbreitungsweise fehlen. In den meisten Fällen werden wohl die Konidien in Wassertropfen von einem Baum auf den anderen übertragen (Tröpfcheninfektion); in Gärten und Baumschulen kommt auch die Schere des Gärtners als Vektor in Frage.

Schon die ersten Forscher sind sich einig, daß eine gesunde, unverletzte Pflanze vor dem Pilzbefall geschützt ist. Die Keimschläuche der Konidien vermögen demnach weder Rinde noch Kutikula zu durchbohren. Auch wenn sie in Lentizellen oder Spaltöffnungen eindringen können, so vermögen sie doch dort nicht Fuß zu fassen und benachbarte Zellen abzutöten. Als Infektionsort kommen deshalb ausschließlich Wunden in Frage. H. Mayr (1882) weist in seinen Infektionsversuchen nach, daß das bloßgelegte (wenn auch unverletzte) Holz die bevorzugte Eintrittspforte bildet. Er erwähnt auch, daß vor allem die Wunden, die den Holzkörper der Wurzel bloßlegen, für die Pflanze gefährlich sein können. Spätere Autoren führen dann aus, daß in erster Linie Frostschäden der Rinde, durch Frost oder Insektenfraß abgetötete Zweige und durch Schneiden entstandene Aststummel dem Pilz den Befall ermöglichen. (R. Beck 1902). Als Besonderheit fanden H. E. Thomas und A. B. Burrel (1929) bei Apfelbäumen, daß die Fruchtansatzstellen vom *Nectria*pilz befallen wurden, und daß die Zweige, die sich im folgenden Jahr an dieser Stelle bildeten, in großer Zahl am Pilzbefall zugrunde gingen. Es scheint demnach, daß die kleine Wunde, die beim Pflücken eines Apfels entsteht, unter Umständen dem Pilz ein Eindringen gestatten kann. C. Wehmer (1894) erwähnt auch die Möglichkeit, daß schon die Blattnarben beim herbstlichen Blattfall dem Pilz die Möglichkeit zum Befall einer gesunden Pflanze geben.

b) Die Ausbreitung des Pilzes im Wirt

Vom Ort der Infektion aus dringt der Pilz in die Gefäße und parenchymatischen Zellen des Holzes vor (H. Mayr 1882, R. Hartig 1889, C. Brick 1892 u. a.). Dabei ernährt er sich vom stärkehaltigen Holzparenchym; die Stärke wird abgebaut, und es entstehen braungrüne „Zersetzungsprodukte“, die das Holz an den befallenen Stellen verfärben. Vom

Holzkörper dringt der Pilz in die Rinde vor und tötet sie ab. Dabei findet man, daß Zellen, die in unmittelbarer Nähe der vordringenden Hyphen liegen, aber noch nicht von ihnen befallen sind, bereits plasmolysieren. C. Wehmer (1894) erklärt dies durch einen toxischen Stoff, der vom Pilz gebildet wird und die Wirtszellen abtötet. Es ist dies die erste Literaturangabe, in der die Möglichkeit einer toxigenen Erkrankung erwähnt wird. *Nectria cinnabarina* ist demnach ein typischer Perthophyt, der als pathogener Saprophyt die Wirtszellen vorweg abtötet und erst dann zu besiedeln imstande ist (E. Gäumann 1946). Von der Befallsstelle wächst der Pilz sowohl gegen die Zweigspitze, wie auch in basaler Richtung weiter. Das letztere ist für die Pflanze sehr gefährlich, da auf diese Weise von einem kleinen erkrankten Seitenzweig aus ein ganzer Ast oder der ganze Baum abgetötet werden kann.

Dieser Fall ist allerdings selten. Häufiger findet man, daß die Erkrankung nach einer gewissen Zeit stehen bleibt. Die Gründe für diesen unterschiedlichen Krankheitsverlauf sind eingehend untersucht worden. E. Münch (1909) wies in exakten Versuchen nach, daß der Wassergehalt bzw. der Luftreichtum des Holzes für die Ausbreitung des Pilzes von ausschlaggebender Bedeutung ist. Er fand, daß der Pilz in wassergesättigten, lebenden Ästen nur ganz langsam oder gar nicht vordringen kann. Sinkt dagegen der Wassergehalt um 10 oder mehr Prozent (was die Lebensfähigkeit nicht beeinträchtigt), so greift der Pilz rasch um sich. Damit wird unter anderem erklärt, weshalb der Befall eines Baumes im Winter viel rascher vonstatten geht, als im Sommer, wo die Temperatur für das Myzelwachstum vorteilhafter wäre. Die Krankheitsbereitschaft des Wirtes ist also je nach Wassergehalt und damit je nach Klima und Jahreszeit verschieden. Ferner kann die Verschiedenheit der parasitischen Eignung des Erregers den unterschiedlichen Krankheitsablauf erklären. H. van Vloten (1943) und J. Uri (1948) weisen nach, daß verschiedene Stämme von *Nectria cinnabarina* verschieden stark virulent sind, und daß das Ausmaß der Erkrankung je nach Herkunft des Pilzes sehr stark variieren kann. Auch verlieren alle Stämme ihre Virulenz schon nach kurzer Kulturdauer auf künstlichen Nährmedien.

c) Die Erkrankung

Wenn der Pilz im Holz des Wirtes Fuß gefaßt hat, reagiert dieser in charakteristischer Weise. Das erste Symptom ist eine Verfärbung des befallenen Holzteiles. H. Mayr (1882) und C. Brick (1892) führen diese Erscheinung auf Zersetzungsprodukte beim Stärkeabbau zurück. Als eigentliche Abwehrreaktion findet man dann in den meisten Fällen gummöse Stoffe in den Gefäßen, die den Befallsherd vom gesunden Gewebe abgrenzen. A. B. Frank (1884) beschreibt als erster diese Erscheinung. In der Arbeit von J. Uri (1948) wird eine eingehende Untersuchung über diese Abwehrreaktion gegeben. Der Pilz mag in manchen Fällen durch diese Barrikade aufgehalten werden, häufig jedoch überwindet oder umgeht er sie und breitet sich in der Pflanze weiter aus. In der Rinde bewirkt der Parasit eine Nekrose

des Kambiums und des Phloems. Im Gegensatz zu *Nectria galligena* verursacht *Nectria cinnabarina* keine gesteigerte Kambiumtätigkeit. Die Pflanze bildet keine Überwallungswülste; die Rinde ist an der Befallsstelle eingesunken. Es kommt somit nicht zur Bildung von typischen Krebsgeschwülsten, die für *Nectria galligena* und andere Krebserreger charakteristisch sind. J. Berducou (1949) hat nachgewiesen, daß *Nectria galligena* in künstlichen Nährmedien den Wuchsstoff β-Indol-Essigsäure bildet, während *Nectria cinnabarina* diese Fähigkeit nicht besitzt. Dies mag eine Erklärung des unterschiedlichen Krankheitsbildes sein.

Das auffälligste Symptom einer *Nectria*erkrankung ist die Welke. In weitaus den meisten Arbeiten wird auf diese Erscheinung hingewiesen. Am auffälligsten tritt sie dann zutage, wenn der Pilz, von einem Seitenzweig herkommend, in einen Hauptast eindringt. Dann können von einem Tag auf den andern sämtliche Blätter des Astes oberhalb der Infektionsstelle an Welkeerscheinungen zugrunde gehen; häufig findet man dabei die Interkostalfelder der Blätter braun verfärbt. Verschiedene Autoren haben versucht, diese Erscheinung zu erklären.

H. Mayr (1882) nimmt an, daß das Holz durch den Einfluß des Pilzes seine Fähigkeit, Wasser zu leiten, verliert. Dieser Verlust sei darauf zurückzuführen, daß gummiartige Abbauprodukte von Zellwänden die Gefäße verstopfen. Die Welke der Blätter sei somit eine Folge der unterbundenen Wasserzufuhr. Diese einleuchtende Hypothese ist seither vorherrschend. Die Bildung von Thyllen und gummösen Substanzen als Antwort auf einen Pilzbefall oder eine Verwundung ist eingehend untersucht worden (E. Prilleux 1875, A. B. Frank 1884, J. Uri 1948). J. Line (1923) glaubt ebenfalls, daß die Unterbrechung des Wassernachschubes die Ursache der Welke sei, nur nimmt er an, daß die Pilzhyphen selbst die Gefäße verstopfen. Er bestreitet ausdrücklich, daß der Pilz ein Toxin bildet, welches die Blätter abzutöten vermag. Erst in der Arbeit von J. Uri (1948) wird darauf aufmerksam gemacht, daß ein giftiges Stoffwechselprodukt für die Welke verantwortlich sein könne. Die Autorin glaubt aber nicht an eine Fernwirkung des Giftes auf die Blätter, sondern sieht die Erklärung der Welke darin, daß das Toxin die benachbarten Holzparenchymzellen zur Bildung einer gummösen, wasserundurchlässigen Demarkationszone stimuliert.

Die Annahme, daß das Welken eines Blattes auf gestörten Wassernachschub zurückzuführen sei, liegt selbstverständlich auf der Hand; es ist die einleuchtendste Erklärung. Erst in den letzten Jahren wurden die Fusariosen, Verticillosen und anderen Welkekrankheiten systematisch untersucht, und es ist seither gelungen, nachzuweisen, daß bei einigen dieser parasitogenen Welkeerkrankungen giftige Pilzstoffwechselprodukte die Blätter auf direktem Weg abtöten können (E. Gäumann und O. Jaag 1946, 1947). Aus diesem Grunde wurde auch die *Nectria*erkrankung, die ebenfalls zu den Fusariosen gerechnet werden kann, in Untersuchung genommen. Die folgenden Kapitel sollen einen Überblick über die bisher erzielten Resultate geben.

2. Kapitel
Die Toxinproduktion

A. Herkunft und Beschreibung des Pilzmaterials

Zur Untersuchung der Stoffwechselprodukte wurden aus 24 Isolationen von 21 verschiedenen Wirten 5 Stämme ausgelesen und ständig beibehalten. Die Auslese erfolgte nach folgenden Gesichtspunkten: 2 Stämme von eindeutig saprophytischer Natur (Stamm II und III), die abgeschnittene, tote Zweige am Boden besiedelten; 2 eindeutig parasitische Stämme, die als Wundparasiten in den lebenden Organismus einzudringen imstande waren (Stamm I und IV); daneben wurde noch ein Pilz in Untersuchung genommen, der sich von *Nectria cinnabarina* deutlich unterscheidet, der jedoch ebenfalls als Wundparasit auftrat und dieselben pathologischen Erscheinungen auslöste (Stamm V).

Stamm I isoliert aus *Tubercularia* auf *Acer palmatum* var. *Thunbergi*. Fundort: Gehölzgarten der Eidgenössischen Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil.

Pathologisches Bild des befallenen Ahorns: Der Pilz besiedelte einen durch Schneiden entstandenen, etwa 2 cm langen, fingerdicken Aststummel. Dieser war mit *Tubercularia*polstern besetzt. Daneben war der Parasit etwa 1 cm weit in den Hauptast vorgedrungen; dessen Blätter zeigten noch keine Anzeichen einer Schädigung.

Der Pilz wurde zur genauen Bestimmung auf autoklaviertem Ahornholz unter sterilen Bedingungen kultiviert. Dort bildete er nach 3 Wochen *Tubercularia*polster. Dann wurde das befallene Holz im Frühjahr an einem schattigen Ort auf die Erde ausgelegt und den Witterungseinflüssen ausgesetzt. Im Verlauf eines Monats bildete der Pilz Perithezien, an Hand derer er bestimmt werden konnte.

Sporenmaße: Die Messung der Sporen erfolgte in Milchsäure; zur Berechnung der Streuung wurden 200 Sporen mit der Ölimmersion ausgemessen und die Werte nach folgenden Formeln bestimmt:

$$\text{Mittelwert:} \quad M = \frac{\Sigma pa}{n}$$

$$\text{Streuung:} \quad \sigma = \pm \sqrt{\frac{\Sigma pD^2}{n}},$$

wobei a = Klassenwerte
p = Frequenz der einzelnen Klassenwerte
n = Gesamtzahl der Individuen
D = Abweichung vom Mittelwert

bedeuten.

Konidien (aus *Tubercularia*): Länge $6{,}6 \pm 1{,}7\ \mu$ (2,5—11,5 μ), Breite 1,5—3 μ, einzellig, hyalin, oval, nicht oder nur schwach gekrümmt.

Ascosporen: Länge $15{,}6 \pm 2{,}1\ \mu$ (9,5—21 μ), Breite $5{,}6 \pm 1{,}2\ \mu$ (3,4—8,2 μ), meistens zweizellig, in der Mitte leicht eingeschnürt, hyalin, zu 8 in den Asci (Abb. 1 und 2).

Beschreibung der Malzagarkultur: Hyaliner oder ganz leicht gelbgefärbter Überzug, Luftmyzelbildung kurz nach dem Isolieren spärlich, nach mehrmaligem Weiterimpfen verschwindend. Konidien in sehr großer Anzahl überall am Myzel entstehend, in ihren Maßen übereinstimmend mit den *Tubercularia*konidien.

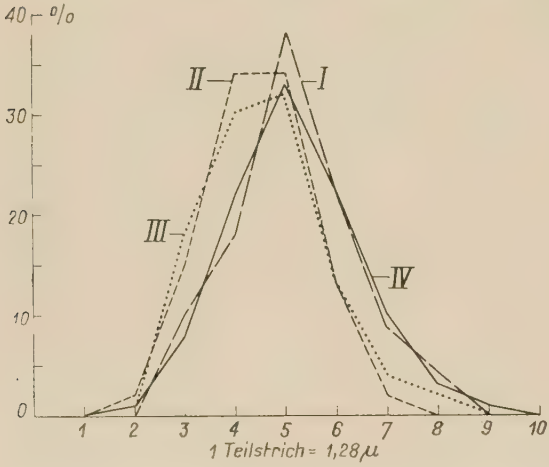


Abb. 1
Variationspolygone der Konidienlängen von *Nectria cinnabarina*; Stämme I—IV

Stamm II isoliert aus *Pirus Malus*, Apfel, Sorte Boskoop. Fundort: Obstanlage der Eidgenössischen Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau Wädenswil.

Befallsart: Saprophytisch auf abgeschnittenen Zweigen. Es ist kaum wahrscheinlich, daß der Pilz die lebenden Triebspitzen befallen hat. Vermutlich ist er erst auf dem Boden in die dort liegengebliebenen Zweige eingedrungen.

Zur Untersuchung wurde dieser Pilz auf autoklavierten Apfelästen kultiviert, im übrigen war die Behandlung dieselbe wie bei Stamm I. Die Bildung von *Tubercularia* erfolgte nach 5 Wochen; Perithezien wurden nicht angelegt.

Sporenmaße: Konidien: Länge 5,7 ± 1,0 µ (2,5 bis 9,0 µ), Breite 1,5—3 µ, einzellig, hyalin, oval, nicht gekrümmt (Abb. 1).

Malzagarkultur: Myzel farblos, keine Luftmyzelbildung. Bei alten, eingetrockneten Kulturen bilden sich gelb-orange gefärbte Sporenballen, entsprechend den *Tubercularia*lagern auf natürlichem Substrat.

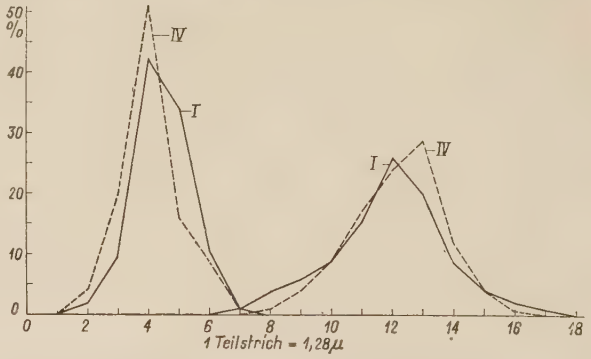


Abb. 2. Variationspolygone der Ascosporen von *Nectria cinnabarina*; Länge und Breite; Stämme I und IV

Stamm III isoliert aus *Prunus Armeniaca*, Aprikose, Sorte Sucré de Holub. Fundort: Garten, Schützenmattstraße 6, Wädenswil.

Befallsart: Saprophytisch auf abgeschnittenen, liegengebliebenen Zweigen als *Tubercularia*. Der Baum selbst zeigte nie Anzeichen einer Schädigung, so daß der Pilz wohl erst in die getöteten Zweige eingedrungen ist.

In Kultur auf autoklaviertem Aprikosenholz bildete er 3 Wochen nach der Infektion *Tubercularia*lager; ein Monat nach dem Auslegen der

infizierten Zweige auf Erde traten ganz vereinzelte Perithezien auf. Es konnten einige reife Asci gefunden werden, doch reichte das Sporenmaterial zu einer variationsstatistischen Untersuchung nicht aus.

Sporenmaße: Konidien: Länge $5{,}9 \pm 1{,}1\ \mu$ (2,5—9,0 μ), Breite 1,5—3 μ, einzellig, hyalin, nicht gekrümmt (Abb. 1).

Ascosporen: Länge 12—19 μ, Breite 4—7 μ, zweizellig, hyalin, in der Mitte eingeschnürt.

Malzagarkultur: Von Stamm II nicht zu unterscheiden.

Stamm IV isoliert aus *Ribes vulgare*, Johannisbeere, Sorte Rote Holländer. Fundort: Hausgarten im Gutsbetrieb Bocken bei Horgen.

Pathologisches Bild: Der Pilz war vermutlich von einem abgestorbenen Seitenast in den Stamm der als Bäumchen gezogenen Pflanze eingedrungen. Das ganze Blattwerk welkte von einem Tag auf den andern. Fruchtkörper des Pilzes konnten nicht gefunden werden. Der Pilz wurde aus dem, an einer braunen Verfärbung kenntlichen, befallenen Holz isoliert.

In Kultur auf autoklaviertem *Ribes*holz bildete er nach 3 Wochen *Tubercularia*polster und 6 Wochen nach dem Auslegen auf Erde Perithezien.

Sporenmaße: Konidien: Länge $6{,}5 \pm 1{,}2\ \mu$, (3,7—11 μ), Breite 1,5—3 μ, einzellig, zum Teil leicht gekrümmt, hyalin, oval.

Ascosporen: Länge $16{,}2 \pm 3{,}0\ \mu$ (10,5—22 μ), Breite $5{,}8 \pm 1{,}2\ \mu$ (3,0—9,0 μ), zwei-, in seltenen Fällen dreizellig, bei den Querwänden leicht eingeschnürt, hyalin.

Malzagarkultur: Bildung von spärlichem Luftmyzel, bei alten Kulturen ist das Myzel bräunlich gefärbt. Bei eintrocknenden Kulturen treten *Tubercularia*-ähnliche Lager in großer Zahl auf.

Diese 4 Stämme stimmen in allen Beziehungen mit den Beschreibungen von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. überein (W. Migula 1913). Bei Stamm IV erhebt sich die Frage, ob er nicht identisch sein könnte mit *Nectria ribis* (Tode) Oud. Dieser Pilz soll sich von *N. cinnabarina* durch etwas größere Ascosporen unterscheiden. Doch bestehen nach G. Winter (1887) einige Zweifel, ob die beiden Pilze nicht ein und dasselbe sind.

Stamm V isoliert aus *Robinia pseudacacia*. Fundort: südexponierter Waldrand, Rötibodenholz in Wädenswil.

Befallsart: Der Pilz drang in einen durch Abbrechen entstandenen Aststummel ein. Es gelang ihm nicht, von diesem aus den angrenzenden Hauptast zu besiedeln.

Auf dem Stummel fanden sich kleine, $^1/_2$—1 mm breite, aus der Rinde hervorbrechende, ziegelrot gefärbte Polster. Diese sind von den *Tubercularia*-Stromata schon äußerlich wegen ihrer geringen Größe und dunkeln Farbe leicht zu unterscheiden. Die darin gebildeten Sporen gehören zum *Fusarium*typ. Die Bestimmung des Pilzes ist wegen der überaus komplizierten Systematik der Gattung *Fusarium* sehr schwierig. Wahrscheinlich handelt es sich um ein *Fusarium* aus der Sectio *Lateritium* (H. W. Wollenweber 1924). In Kultur auf autoklaviertem Robinienholz bildeten sich wieder dieselben Lager

mit *Fusarium*sporen. Die dazugehörige Hauptfruchtform (vermutlich eine *Gibberella*) konnte nicht gefunden werden. Nach H. W. Wollenweber (1924) treten die Fusarien aus dieser Sectio an warmen, trockenen Standorten oft an Stelle von *Nectria cinnabarina* als Gefäßparasiten auf.

Sporenmaße: Konidien: Länge 25—45 μ, Breite 3—5 μ, sichelförmig gekrümmt, 3—4fach septiert, hyalin.

Malzagarkultur: Myzel weiß bis gelblich, mit sehr reicher Luftmyzelbildung. Konidien in großer Anzahl. Nach 1—2 Wochen Kulturdauer bei 24° C färbt sich das Substrat intensiv rotviolett an.

Tabelle 1

Übersicht über die untersuchten Pilzstämme

Stamm Nr.	Pilz	Wirt	Befallsart	Sporenlänge	
				Konidien	Ascosporen
I	*Nectria cinnabarina*	*Acer palmatum*	parasitisch	6,6 ± 1,7	15,6 ± 2,1
II	*Nectria cinnabarina*	*Pirus malus*	saprophytisch	5,7 ± 1,0	—
III	*Nectria cinnabarina*	*Prunus armeniaca*	saprophytisch	5,9 ± 1,1	12–19
IV	*Nectria cinnabarina*	*Ribes vulgare*	parasitisch	6,5 ± 1,2	16,2 ± 3,0
V	*Fus.* cf. *lateritium*	*Robinia pseudacacia*	parasitisch	25—45	—

B. Testmethoden

1. Welketest

Das Hauptziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, aus Kulturfiltraten der beschriebenen 5 Stämme einen oder mehrere Welkestoffe zu isolieren. Diese sollten in Wasser gelöst, von den Pflanzen im Transpirationsstrom aufgenommen werden, und in deren Blättern dieselben Symptome auslösen, die eine spontan an *Nectria cinnabarina* erkrankte Pflanze kennzeichnen. Zur Untersuchung der Toxinbildung lag es daher nahe, Zweige oder Blätter in Kulturfiltrate einzustellen und festzustellen, ob sie dadurch geschädigt werden. Diese Methode wurde schon von J. Uri (1948) angewendet, doch ohne Erfolg. Die Autorin fand, daß Ulmenzweige, die sie als Testmaterial verwendete, in Kulturfiltraten wohl nach kurzer Zeit welkten, die zur Kontrolle in Nährlösung eingestellten Zweige jedoch dieselben Symptome aufwiesen.

Für unsere Versuche verwendeten wir Blätter und Zweige der roten Johannisbeere, *Ribes vulgare*, Sorte Rote Holländer. In einem Vorversuch wurde Stamm IV während 24 Tagen bei 24° C in 400 cc-Erlenmeyerkolben mit 100 cc Richardscher Nährlösung (Zusammensetzung siehe S. 175) kultiviert. Während dieser Zeit entwickelte der Pilz ein weißes, watteartiges, submerses Myzel; die Nährlösung verfärbte sich schwach gelb. Aus dem Kulturfiltrat wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt; 2 Proben blieben unverändert, je 2 weitere wurden auf $^1/_2$, $^1/_4$ und $^1/_8$ mit Brunnenwasser verdünnt. Aus Nährlösung, die gleicherweise sterilisiert und aufbewahrt, jedoch nicht beimpft wurde, wurde dieselbe Verdünnungsreihe als Kontrollreihe angesetzt. In jede dieser Proben wurde ein Johannisbeerzweig mit einem Blattbüschel aus 3—4 möglichst gleich großen Blättern eingestellt (Raumtemperatur 21° C, relative Feuchtigkeit 50—60%, Beleuchtung

mit 2 Taglicht-Fluoreszenzröhren im Abstand von 60 cm). Schon 16 Stunden nach dem Einstellen traten an den Blättern in unverdünntem Kulturfiltrat die ersten Schädigungen auf. Nach 40 Stunden war das Bild folgendermaßen:

Kulturfiltrat:

Stufe 1 (unverdünnt): Blatträndер eingerollt, Interkostalfelder braun verfärbt, Blätter eingetrocknet und versteift.

Stufe 2 ($^1/_2$ verdünnt): Blattspitzen und Sägezähne eingekrümmt und vertrocknet, Blätter leicht schlaff.

Stufe 3 ($^1/_4$ verdünnt): Blattspitzen und Sägezähne etwas schlaff, Blattspreiten turgeszent.

Stufe 4 ($^1/_8$ verdünnt): keine Schädigungen.

Nährlösung:

Stufe 1 (unverdünnt): Blätter undeutlich schlaff, keine Verfärbung der Blattspreiten.

Stufe 2—4: keine Schädigungen.

Der pH-Wert des Kulturfiltrates betrug 3,5. Zur Abklärung, ob dieser hohe Säuregrad für die Welke verantwortlich sei, wurden folgende Kontrolllösungen getestet:

Essigsäurelösung pH 3,2	keine Schädigungen
Salzsäurelösung pH 3,2	keine Schädigungen
Nährlösung angesäuert auf pH 3,2	schwache Schädigung in Stufe 1
Kulturfiltrat neutralisiert (pH 6,9) .	Schädigungen in Stufe 1—3

Dieser erste Vorversuch ergab, daß der Pilz einen Stoff bildet, der Johannisbeerblätter zu schädigen vermag. Ferner durfte man vermuten, daß auf dieser Basis ein zu einer chemischen Aufarbeitung von Kulturfiltraten geeigneter Test gefunden werden könne.

a) Test mit Johannisbeerblättern

Als Routinetest zur Feststellung der Aktivitäten von Kulturfiltraten und Aufarbeitungsprodukten wurde folgende Methode gewählt:

Von jeder zur Untersuchung gelangenden Lösung wurde eine Verdünnungsreihe über 5 Stufen angesetzt. Deren Konzentrationen waren: 1, $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$ und $^1/_{16}$ der Ausgangskonzentration. Die Verdünnung erfolgte mit Brunnenwasser. Für jede Stufe wurden 3 Welkegläschen (etwa 10 cc fassende, zylindrische Pillengläser) benötigt, die mit je 8 cc Lösung gefüllt wurden. Für einen Test brauchte man somit etwa 50 cc Ausgangslösung (24 cc für die 1., 12 cc für die 2., 6 cc für die 3., 3 cc für die 4. und $1^1/_2$ cc für die 5. Stufe).

In jedes Gläschen wurden 3 Blätter eingestellt. Ein Test benötigte demnach 30 möglichst gleichartige Blätter. Diese wurden mit einer Rasierklinge bei der verdickten Stielansatzstelle vom Zweig abgetrennt und möglichst rasch nach dem Abschneiden eingestellt. Bei der Auswahl des Testmaterials wurde darauf geachtet, daß alle Blätter von derselben Pflanze stammten. Ferner war es von großem Einfluß, ob stark besonnte oder Schattenblätter zur Verwendung kamen. Die regelmäßigsten Resultate wurden mit Schattenblättern, die im Innern des Strauches an Kurztrieben auf mehrjährigem Holz

wuchsen, erzielt. Sonnenblätter und Blätter an diesjährigen Langtrieben transpirierten schwach und unregelmäßig und waren deshalb als Testmaterial unbrauchbar.

Die Teste wurden in einem Kellerraum mit möglichst konstanter Temperatur (20—21 °C) und gleichbleibender Feuchtigkeit (etwa 50 % relativ) ausgeführt. Die Beleuchtung erfolgte durch 2 Taglicht-Fluoreszenzröhren im Abstand von 60 cm von den Blättern.

24 Stunden nach dem Einstellen wurden die Teste abgelesen. Dabei wurden 2 Symptomgruppen berücksichtigt:

Symptomgruppe A: Änderung des Turgors. Dabei kann es sich sowohl um ein Erschlaffen, als auch um den gegenteiligen Effekt, ein Aussteifen und Vertrocknen, handeln. Oft überschneiden sich die beiden Effekte, so daß z. B. der Blattrand versteift, die Blattspreite erschlafft ist.

Symptomgruppe B: Verfärbung der Blattspreite. Dabei kommen einerseits verwaschene Verfärbungen, die sich über die ganze Blattspreite erstrecken können, anderseits scharf begrenzte, nekrotische Flecken auf den Interkostalfeldern vor.

Wegen dieser mannigfaltigen Symptome, die sich in jeder Richtung überschneiden können, war eine Bonitierung ziemlich schwierig. Es wurde folgendes Schema angewendet:

A 0: keine Schädigung.
A 1: Blattspitzen und Sägezähne eingerollt, schlaff oder versteift.
A 2: Blattränder schlaff oder versteift.
A 3: Blattfläche mindestens zur Hälfte schlaff oder versteift.
A 4: ganzes Blatt schlaff oder eingedorrt.

B 0: keine Schädigung.
B 1: kleine nekrotische Flecken bis maximal $^1/_{20}$ der Fläche oder undeutliches Vergilben.
B 2: nekrotische Flecken bis maximal $^1/_5$ der Fläche oder diffuse, leichte Bräunung der Spreite.
B 3: nekrotische Flecken oder starke Bräunung auf mindestens der Hälfte des Blattes.
B 4: ganzes Blatt braun verfärbt.

Die Blätter jeder Stufe wurden einzeln nach A und B taxiert; dann wurden die Durchschnitte berechnet und auf semilogarithmischem Papier aufgetragen. Durch die erhaltenen Punkte wurden Regressionsgeraden gezogen. An Hand dieser Geraden wurde diejenige Verdünnung bestimmt, die die Wirkungsintensität 2 auslöst. Diese wurde willkürlich als Grenze zur Festlegung der Wirkungseinheit angenommen. Eine Lösung, die in einer Verdünnung auf $^1/_6$ die Symptomintensität 2 bewirkt, hat somit 6 Verdünnungseinheiten (Methode nach E. Gäumann, S. Naef-Roth und G. Miescher 1950).

Zur Prüfung der Zuverlässigkeit dieser Testmethode wurde eine 4wöchige Kultur des Stammes IV auf Richardscher Nährlösung durch ein Seitzfilter filtriert, das Kulturfiltrat bei 3—6 °C aufbewahrt und innerhalb dreier Wochen 10mal getestet. Dabei zeigte es sich, daß die B-Werte sehr stark streuten und deshalb als Testkriterium nicht in Betracht kommen

konnten. Fleckenbildung oder Verfärbung unterblieben oft ganz, oder traten in derselben Stufe nur bei einem Teil der Blätter auf.

Das Streuungsbild der Symptomgruppe A ist in Abb. 3 dargestellt.

Aus diesen 10 Testen wurden die Mittelwerte der 5 Stufen berechnet und eine Standardkurve gezeichnet (ausgezogene Kurve in Abb. 3). Diese schneidet den Ordinatenwert 2 bei ungefähr $^1/_3$. Die Aktivität beträgt somit im Durchschnitt 3 Welkeeinheiten. Der höchste Wert ist 4, der tiefste 2 Einheiten. Diese Streuung ist beträchtlich. Es gelingt nicht, die Konzentration x von den Konzentrationen 2x bzw. x/2 in einem Test mit Sicherheit zu unterscheiden.

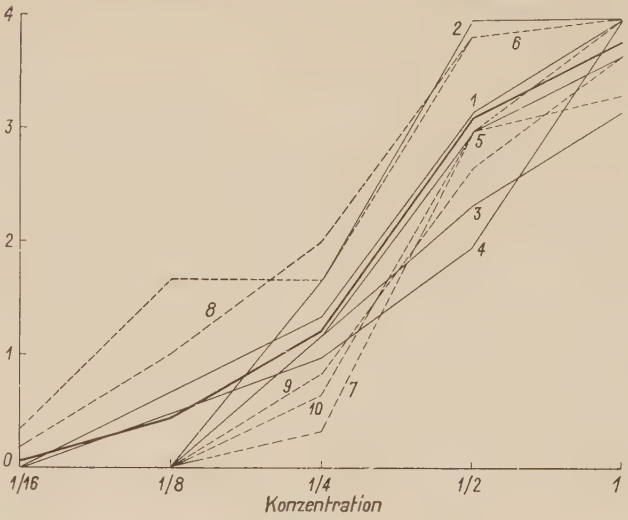


Abb. 3
Welketest mit Johannisbeerblättern. Streuungsbild einer 10mal getesteten Lösung, Symptomgruppe A. Ordinate: Wirkungsintensität. Abszisse: Konzentration. Ausgezogene Kurve: Durchschnitt der 10 Teste

Bei Verwendung von 10 oder 20 Blättern je Teststufe könnte die Streuung sicher verkleinert werden. Dem stand jedoch der Mangel an Testmaterial und Zeit im Wege. Für eine chemische Aufarbeitung mußte mit ungefähr 10 Testen je Tag gerechnet werden; dazu wären 500—1000 Blätter benötigt worden.

Eine chemische Aufarbeitung auf Grund dieser Testmethode stieß noch auf andere Schwierigkeiten:

1. Die Blätter sind gegen hohe Salzkonzentrationen empfindlich. Die durch Ansäuern auf pH 1 und nachheriges Neutralisieren von Kulturfiltraten anfallende Salzmenge genügt, um Blätter zu schädigen.

2. Die jahreszeitlichen Schwankungen sind sehr groß. Die Blätter sind im Frühsommer empfindlicher als im Hochsommer und Herbst.

3. Zwischen der herbstlichen Blattverfärbung (Oktober/November) und dem Austreiben im Frühjahr besteht eine Testlücke. Diese kann dadurch verkürzt werden, daß man Äste in der Winterruhe durch Warmwasserbehandlung (6 Stunden in 40—50° C warmem Wasser) und nachheriges Einstellen in einem warmen, feuchten Raum zum Austreiben bringt. Bei genügender künstlicher Beleuchtung bilden sich auf diese Weise schon im Januar Blätter, die sich gut zum Testen eignen. Sie sind etwas empfindlicher als im Freien gewachsene.

Ein weiterer schwerwiegender Nachteil ist die große Menge Lösung, die für einen Test verwendet werden muß. Bei einer Aufarbeitung wird

infolge der geringen Aktivität der Kulturfiltrate (etwa 3 Einheiten) schon ein großer Teil der anfallenden Fraktionen zum Testen aufgebraucht.

Ein Versuch zur Isolierung des Welketoxins auf Grund dieser Testmethode mußte nach kurzer Zeit aufgegeben werden.

b) Andere Welketestobjekte

Neben der Johannisbeere wurden auch andere Blätter auf ihre Eignung als Testobjekte hin untersucht.

Tomatenblätter, die sich zur Aufarbeitung von Lycomarasmin einigermaßen eigneten (zusammenfassende Darstellung bei E. Gäumann, S. Naef-Roth und G. Miescher 1950), sprechen auf den *Nectria*welkestoff nur schlecht an. Eine zum vorher beschriebenen *Ribes*test analoge Testserie mit 12 Blättern je Stufe ergab im Durchschnitt eine Aktivität von nur 1,5 bis 2 Einheiten.

Bohnenblätter zeigten sich empfindlicher als *Ribes*blätter; das Standard-Kulturfiltrat kam auf ungefähr 8 Einheiten. Als Testobjekt kamen sie deshalb nicht in Frage, weil sie schon durch kleine Salzkonzentrationen geschädigt werden. Die reine Nährlösung ohne Glukose vermochte bis zu einer Verdünnung auf $^1/_4$ auf den Blättern Vergilbungen hervorzurufen. (Getestet wurde mit primären Bohnenblättern, d. h. dem ersten gegenständigen Blattpaar junger Bohnenpflanzen. Die sekundären, wechselständigen Blätter transpirierten unter den gegebenen Bedingungen schlecht und waren deshalb weniger empfindlich.)

2. Antifungische Teste

a) *Pythium de Baryanum*

J. Uri (1949) fand, daß Kulturfiltrate von *Nectria cinnabarina* das Wachstum von *Pythium de Baryanum* Hesse hemmten. Auf der Suche nach einem Aufarbeitungstest wurden ihre Versuche wiederholt.

Aus welkeaktivem Kulturfiltrat (Stamm IV) wurde mit Richardscher Nährlösung mit 5% Glukose eine Verdünnungsreihe hergestellt, welche die Toxinlösung in den Konzentrationen $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$ und $^1/_{32}$ enthielt. Von jeder Stufe wurden 5 Reagenzgläser mit je 8 cc Lösung gefüllt; 5 Kontrollgläser blieben toxinfrei. Diese Testgläser wurden mit *Pythium*myzel, das in einem elektrischen Mixgerät, Marke „Turmix", steril zerkleinert und gleichmäßig suspendiert wurde, beimpft, und bei 24° C während einer Woche inkubiert. Nach dieser Zeit konnte nebenstehende Luftmyzelbildung beobachtet werden (Tabelle 2, Abb. 4).

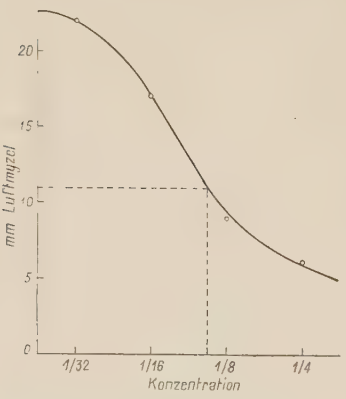


Abb. 4
Wachstumshemmung bei *Pythium de Baryanum* durch Kulturfiltrat von *Nectria cinnabarina* in Abhängigkeit von der Konzentration

Tabelle 2

Gehalt an Kulturfiltrat	Luftmyzel in mm
$^1/_4$	$6 \pm 1{,}4$
$^1/_8$	$8 \pm 2{,}0$
$^1/_{16}$	$17 \pm 2{,}2$
$^1/_{32}$	$22 \pm 1{,}8$
Kontrolle	$21 \pm 1{,}5$

Wenn man willkürlich die Konzentration, die das Myzelwachstum auf die

Hälfte herabsetzt als Einheit definiert, besitzt das Kulturfiltrat 10 *Pythium*-einheiten.

Obwohl diese Testmethode genaue Werte zu liefern versprach, konnte sie als Routinetest nicht in Frage kommen. Die Testdauer von einer Woche würde eine Aufarbeitung allzusehr verzögern.

b) Sporenkeimungstest mit *Ustilago zeae*

Herr Heinz Kern am Institut für spezielle Botanik an der E. T. H. fand bei Kulturfiltraten unseres Stammes IV, die ihm zur Untersuchung auf antifungische Eigenschaften zur Verfügung gestellt wurden, daß Sporen von *Ustilago zeae*, dem Erreger des Maisbrandes, in ihrer Keimung gehemmt wurden. Seine Mitarbeit sei an dieser Stelle bestens verdankt. Auf Grund dieser Beobachtung wurde ein Test ausgearbeitet, der im folgenden immer verwendet wurde.

aa) Methode

1. Herstellen einer Verdünnungsreihe des Toxins mit Leitungswasser.
2. Beimpfen mit Sporensuspension in Keimungsnährlösung.
3. Bestimmen des Prozentsatzes der gekeimten Sporen in jeder Stufe.

Verdünnungsreihe: Im normalen Test erfolgt die Verdünnung über 5 Stufen. Für jeden Test braucht man 4 Reagensgläser, die mit 1 cc Wasser beschickt sind, sowie ein leeres. 1 cc Testlösung wird in das leere Gläschen gebracht. Ein zweiter Kubikzentimeter wird mit 1 cc Wasser vermischt, von dieser Mischlösung 1 cc in ein weiteres Reagensglas gebracht und dort vermischt usw. Die Toxinkonzentrationen betragen somit in den einzelnen Stufen: 1, $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$ und $^1/_{16}$ der Ausgangskonzentration.

Sporensuspension: Die *Ustilago*sporen kleben ziemlich stark aneinander und lassen sich deshalb nur schwer suspendieren. Gute Resultate erzielt man mit dem „Turmix". Etwa 100 cc Nährlösung werden in den „Turmix" gebracht und eine Messerspitze Sporenmaterial zugegeben. Nach kurzem Laufenlassen des Motors wird die Suspension durch fettfreie Watte filtriert und die Zahl der Sporen in der Thomakammer bestimmt. Dann verdünnt man die Suspension mit Nährlösung soweit, daß 1 cc 100 000 Sporen enthält.

Zu jeder Stufe der Verdünnungsreihe wird 1 cc Sporensuspension zugegeben, so daß die endgültigen Toxinkonzentrationen $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$ und $^1/_{32}$ der Ausgangskonzentration betragen.

Nährlösung: Die Sporen keimen nur schlecht in Leitungswasser, dagegen gut in Nährlösungen, z. B. Czapek und Richard. Am besten eignet sich Orangensaft in einer Verdünnung auf $^1/_{10}$. Dort erfolgt die Keimung am regelmäßigsten, durchschnittlich zu 75%.

Ausführung des Tests: Für jeden Test werden 2 Objektträger benötigt, die in je 3 Felder eingeteilt sind. In jedes Feld werden 2 Tropfen einer Stufe gegeben, in das 6. Feld 2 Kontrolltropfen von reiner, mit Wasser auf die Hälfte verdünnter Sporensuspension. Diese Objektträger werden in einer mit feuchtem Filterpapier ausgekleideten Petrischale über Nacht bei 25°C auf-

bewahrt. Nach etwa 15 Stunden werden die Prozente der gekeimten Sporen unter dem Mikroskop bestimmt. Je Stufe werden in der Regel 100, bei besonderen Testen 200 Sporen beobachtet. Der Prozentsatz der Keimung in der Kontrolle wird als 100 gesetzt und die Zahlen der einzelnen Stufen in Prozente der Kontrollkeimung umgerechnet.

Als Einheitsgrenze wird die Konzentration definiert, die die Sporenkeimung auf die Hälfte herabsetzt (LD_{50}). Aus den Keimprozenten der Verdünnungsstufen läßt sich die LD_{50} auf verschiedene Weise bestimmen. Die folgenden Methoden sind zum Teil einer Arbeit von S. Blumer und J. Kundert (1949) entnommen.

bb) Graphische Methode auf semilogarithmischem Papier

Die Keimprozente werden direkt auf eine lineare Ordinate, die Konzentrationen auf eine logarithmische Abszisse aufgetragen. Die resultierende Kurve ist im Idealfall eine Sigmoidkurve. In Abb. 5 sind die Durchschnittswerte einer 10 mal blind unter Nummer getesteten Standardlösung dargestellt. Der Schnittpunkt dieser Kurve mit dem Ordinatenwert 50 liegt bei 12,5. Die Lösung enthält demnach 12,5 Einheiten.

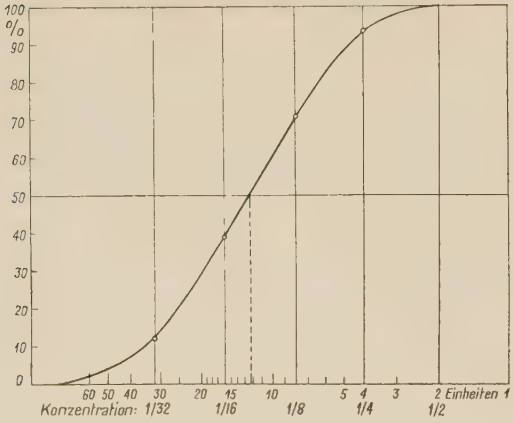


Abb. 5
Sporenkeimungshemmung. Graphische Darstellung auf semilogarithmischem Papier. Ordinate: Prozente der nicht gekeimten Sporen. Abszisse: Konzentration

Die Methode hat folgenden Nachteil: In unserem Fall liegen meistens 2 der 4 bestimmten Punkte auf dem gekrümmten oberen bzw. unteren Teil der Kurve. Sie fallen deshalb für das Legen einer Geraden, was die Bestimmung des Schnittpunktes mit der 50%-Linie ermöglicht, außer Betracht. Die Gerade kann also nur durch 2 Punkte gezogen werden; dadurch wirken sich Auszählungsfehler einer einzigen Stufe stark aus, da sie nicht durch die anderen Werte ausgeglichen werden können.

Dieser Nachteil wird durch das Probitverfahren ausgeschaltet (D. J. Finney 1947).

cc) Graphisches Probitverfahren

Diese Methode beruht darauf, daß man die gefundenen Prozentzahlen nicht auf eine lineare Ordinate, sondern auf eine Wahrscheinlichkeitsachse aufträgt, oder aber, daß man die Prozente zuerst an Hand einer Tabelle in Probits umrechnet und dann linear aufträgt. Dadurch verwandelt sich die Sigmoid-Kurve in eine Gerade. Abb. 6 zeigt dieselben Werte wie Abb. 5 im Probitverfahren.

Auf diese Weise können für das Legen der Wirkungsgeraden alle Punkte berücksichtigt werden.

Wenn die Punkte nicht schön auf einer Geraden liegen, kann das Legen der Wirkungsgeraden dadurch erleichtert werden, daß man deren Schwerpunkt (S in Abb. 6) berechnet. Dies ist möglich, da die Probitachse linear ist. Die Wirkungsgerade muß durch den Schwerpunkt gehen und dann ist es leicht, sie von Auge so zu legen, daß die Abstände der Punkte möglichst klein werden.

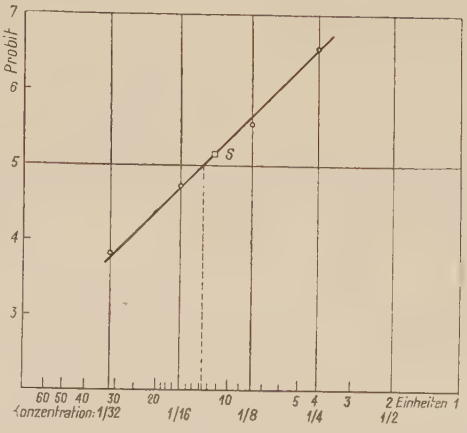


Abb. 6
Sporenkeimungshemmung. Graphische Darstellung auf Probitpapier (dieselben Werte wie in Abb. 5). Ordinate: Prozente der nicht gekeimten Sporen umgerechnet in Probits. Abszisse: Konzentration

dd) Rechnerisches Probitverfahren

Wenn das Legen der Wirkungsgeraden Mühe bereitet, läßt sich der LD_{50}-Wert auch rechnerisch bestimmen.

Die allgemeine analytische Formel der Wirkungsgeraden lautet:

$Y = \bar{y} + b\,(x - \bar{x})$ (Gleichung 1)

Von diesen Größen bedeuten $\bar{x}$ und $\bar{y}$ die Koordinaten des Schwerpunktes, b den Richtungskoeffizienten. Dieser berechnet sich nach der Formel:

$$b = \frac{\Sigma\,(x - \bar{x}) \,.\, \Sigma\,(y - \bar{y})}{\Sigma\,(x - \bar{x})^2} = \frac{\Sigma xy - \bar{x}\,\Sigma y}{\Sigma x^2 - \bar{x}\,\Sigma x} \quad \text{(Gleichung 2)}$$

In Tabelle 3 sind die zu dieser Rechnung benötigten Größen zusammengestellt. Sie stammen aus dem schon vorher angeführten Beispiel.

Tabelle 3

Konzentration in %	lg Konzentration = x	nicht gekeimt %	Probit = y	(lg Konzentration)² = x²	xy
3,125	0,495	12	3,82	0,245	1,89
6,25	0,795	39	4,72	0,618	3,76
12,5	1,097	71	5,55	1,200	6,09
25	1,398	94	6,55	1,950	9,15
Summe	$3{,}785 = \Sigma x$		$20{,}64 = \Sigma y$	$4{,}013 = \Sigma x^2$	$20{,}89 = \Sigma xy$
Durchschnitt	$0{,}946 = \bar{x}$		$5{,}16 = \bar{y}$		

Diese Werte werden in die Gleichung 2 eingesetzt. Daraus erhält man

$b = 3{,}05.$

Diese Zahl bedeutet nach Definition die Zunahme der Keimung in Probiteinheiten bei einer Abnahme der Konzentration um eine Zehnerpotenz.

Für die Berechnung der LD_{50} setzt man in Gleichung 1 $Y = 5$ (Probitwert für 50%). Der dazugehörige Wert x läßt sich nun berechnen. Er beträgt in unserem Beispiel

$x = 0{,}89.$

Dies ist der Logarithmus der Konzentration, die die Sporenkeimung auf die Hälfte herabsetzt.

Der dazugehörige Numerus beträgt 7,8, d. h. der LD_{50}-Wert liegt bei einer Verdünnung auf 7,8 %. Das Kulturfiltrat hat demnach 12,8 Sporenkeimungs-Einheiten (E_{Sp}).

Diese Rechnung ist etwas zeitraubend. Sie wird deshalb nur in den Fällen angewendet, wo das Legen der Geraden von Auge schwierig ist.

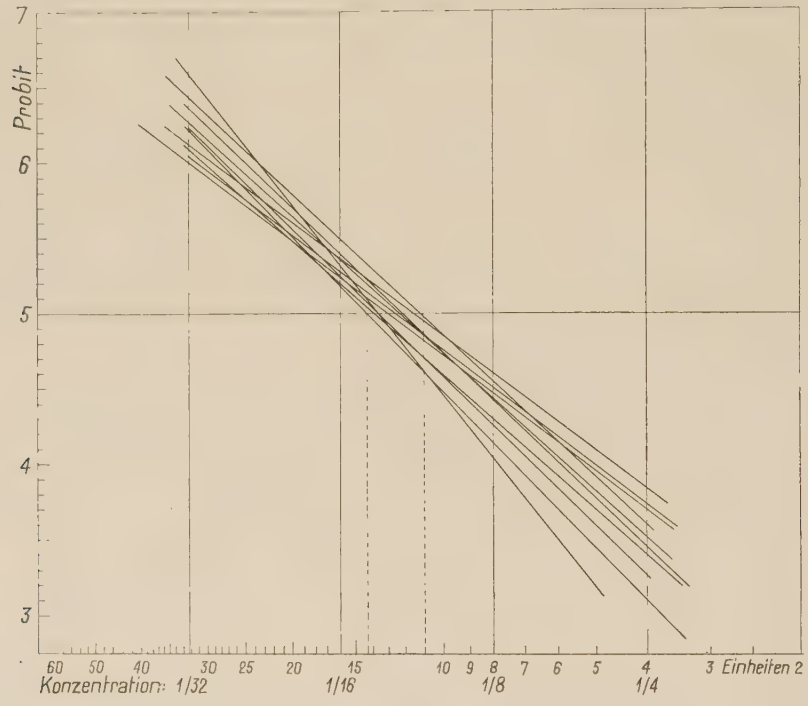


Abb. 7
Sporenkeimungstest. Streuungsbild einer 10mal getesteten Lösung. Graphische Darstellung auf Probitpapier. Ordinate: Prozente der gekeimten Sporen umgerechnet in Probits. Abszisse: Konzentration

Als Routinetest für die chemische Aufarbeitung eignete sich das graphische Probitverfahren am besten. Mit jeder Testserie wurde ein steril filtriertes Kulturfiltrat als Standard blind unter Nummer mitgetestet. Diese Standardbestimmungen ergaben folgende Streuungen:

Abb. 7: Streuungsbild der Regressionsgeraden von 10 aufeinanderfolgenden Standardtesten im Probitverfahren. Werte zwischen 11 und 14,5 Einheiten.

Abb. 8: Zusammenstellung von 28 Standardtesten vor der Einführung des Probitverfahrens. Die Werte liegen zwischen 7 und 20 Einheiten mit einer undeutlichen Häufung bei 11 Einheiten.

Abb. 9: Zusammenstellung von 46 Standardtesten, ausgewertet mit dem Probitverfahren. Die Werte liegen zwischen 10 und 15 Einheiten. 72 % der Bestimmungen ergaben Werte von 12 und 13 Einheiten.

Zu Abb. 8 und 9 ist noch zu bemerken, daß nicht nur das Probitverfahren, sondern auch die zunehmende Erfahrung und Routine das viel günstigere Resultat bewirkt haben mögen.

ee) Vorteile gegenüber dem Welketest

1. Der Sporenkeimungstest gestattet das Erfassen eines viel größeren statistischen Materials. In der Regel genügt die Auszählung von 100 Sporen je Stufe, um die Keimprozente genügend genau festzustellen. Wo auf besondere Genauigkeit Wert gelegt wird, können auch 200 und mehr Sporen berücksichtigt werden.

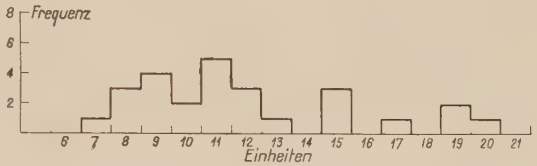


Abb. 8
Zusammenstellung der gefundenen Einheiten im Verfahren auf semilogarithmischem Papier. Streuungsbild aus 28 Testen

2. Das Testmaterial ist einheitlich. Bis Anfang Juni sank die Keimfähigkeit der Sporen von durchschnittlich 80% im November auf 75%. Somit kann während eines ganzen Jahres mit dem gleichen Material gearbeitet werden.

3. Die Sporen sind unempfindlich gegen Fremdzusätze. Ihre Keimung wird durch 20% Methanol und 12% Aceton nicht beeinträchtigt. Eine gesättigte Kochsalzlösung, auf $^1/_4$ verdünnt, ist ohne Einfluß. Der Test läßt sich in einem pH-Bereich von 3,5—7,5 ausführen.

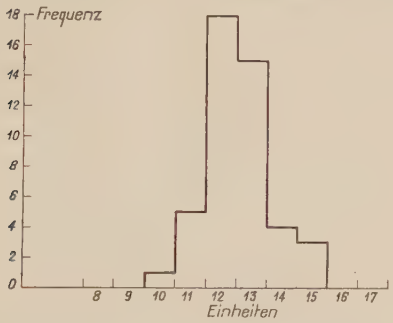


Abb. 9
Zusammenstellung der gefundenen Einheiten im Probitverfahren. Streuungsbild aus 46 einzelnen Testen

4. Ein Test erfordert nur eine geringe Menge Testlösung. Im Routinetest genügen 2 cc. Bei Verwendung feinerer Pipetten kann diese Menge ohne weiteres auf die Hälfte herabgesetzt werden.

Der einzige Nachteil dieser Methode ist prinzipieller Natur. Es war bei der Aufarbeitung nicht sicher, ob der auf diese Weise angereicherte antifungische Stoff mit dem gesuchten Welkestoff identisch sei. Erst als Aufarbeitungsprodukte in genügender Menge und Reinheit vorlagen, ließen sich Welketest und Sporenkeimungstest nebeneinander ausführen.

3. Antibakterielle Teste

Parallel zum Sporenkeimungstest wurde auch versucht, das Toxin durch einen antibakteriellen Test nachzuweisen. Folgende Bakterien wurden in Untersuchung genommen:

Pseudomonas fluorescens
Pseudomonas aeruginosa
Staphylococcus pyogenes
*Staphylococcus aureus**
Sarcina lutea
Sarcina rosea
Streptococcus faecalis
*Escherichia coli**

Serratia marcescens	*Bacillus mycoides*
Proteus vulgaris	*Bacillus mesentericus*
Bacterium circulans	*Bacillus subtilis**
Bacillus megatherium	*Mycobacterium paratuberculosis**

Als Methode wurde der Verdünnungsreihentest gewählt. Die mit * bezeichneten Bakterien wurden auch im Plattentest mit getränkten Filterpapierscheiben geprüft. Die stärkste getestete Lösung hatte 100 E_{Sp}. Es konnte in keinem Fall eine nennenswerte Hemmung beobachtet werden.

C. Kulturbedingungen

1. Einfluß der Temperatur auf Wachstum und Aktivität

Versuchsfrage: Wie ist die Abhängigkeit der Toxinbildung und des Myzelwachstums von der Inkubationstemperatur? Fallen Wachstumsoptimum und Aktivitätsoptimum zusammen?

Ausführung: Es wurde eine Temperaturreihe von 0—37° C mit Intervallen von 3° in Thermostaten angesetzt. In jeder Temperaturstufe wurden 6 500-cc-Erlenmeyerkolben mit je 100 cc Richardscher Nährlösung mit 5% Glukose inkubiert. Pilz: Stamm III. Impfmaterial: Je Kolben 1 cc Sporensuspension, hergestellt aus einer 2 wöchigen Malzagarkultur. Impfdichte: etwa 250 000 Sporen je Kolben.

Der Versuch wurde nach 4 Wochen geerntet.

Resultate: siehe Tabelle 4 und Abb. 10.

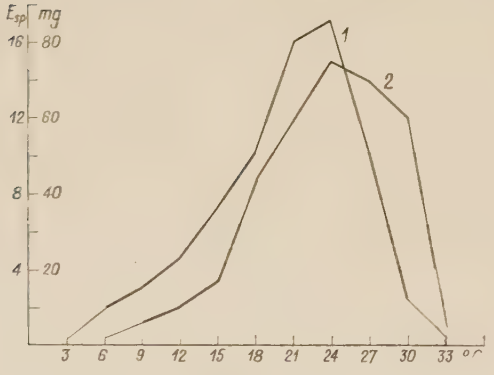


Abb. 10
Einfluß der Temperatur auf Aktivität und Myzelwachstum. 1 = Myzelgewicht, 2 = Aktivität

Tabelle 4

Temp.	Myzel in mg	Aktivität in E_{Sp}
0	0	0
3	Spur	0
6	10,2	1
9	15,4	1,3
12	23,0	2,1
15	36,5	3,4
18	52,1 ± 2,4	8,5 ± 0,4
21	79,0	12
24	85,6	15
27	51,2	14
30	12.8	12
33	Spur	1
37	0	0

Die Streuungen erwiesen sich als gering. Sie wurden deshalb nur für die Temperaturstufe 18°C bestimmt. Die andern Stufen wurden gesamthaft durch je ein Filter filtriert und die Durchschnitte berechnet.

Bei dieser Versuchsanordnung liegen die höchsten Werte des Myzelwachstums und der Aktivität bei 24°C. Der Kurvenverlauf zeigt jedoch, daß das Wachstumsoptimum zwischen 21 und 24°C, das Aktivitätsoptimum zwischen 24 und 27°C liegen dürfte.

2. Einfluß der Nährlösung auf Wachstum und Aktivität

Auf der bisher verwendeten Richardschen Nährlösung wächst der Pilz ziemlich schlecht. Während 4 Wochen Kultur bei der Optimaltemperatur bildet der Pilz auf 100 cc Nährlösung nur 80—90 mg Myzel. Die Aktivität von 10—20 Einheiten ist für eine chemische Aufarbeitung ziemlich niedrig. Es wurde deshalb versucht, durch Verwendung einer besser geeigneten Nährlösung einerseits, eines besseren Produzenten andererseits, die Toxinproduktion zu steigern. Zu diesem Zweck wurden die 5 Stämme auf folgenden Nährlösungen kultiviert:

a) Richardsche Nährlösung modifiziert nach Luz (1934). Zusammensetzung: 10 g NH_4NO_3, 5 g KH_2PO_4, 2,5 g $MgSO_4$, 0,02 g $FeCl_3$, 50 g Glukose, 1000 cc dest. Wasser.

b) Nährlösung nach Czapek. Zusammensetzung: 10 g NH_4NO_3, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g KCl, 0,5 g $MgSO_4$, 0,1 g $Fe_2(SO_4)_3$, 30 g Saccharose, 1000 cc dest. Wasser.

c) Nährlösung nach Raulin. Zusammensetzung: 4 g Weinsäure, 4 g NH_4NO_3, 0,6 g $NH_4H_2PO_4$, 0,6 g K_2CO_3, 0,4 g $MgCO_3$, 0,25 g $(NH_4)_2SO_4$, 0,07 g $Fe_2(SO_4)_3$, 0,07 g K-Wasserglas, 70 g Saccharose, 1500 cc dest. Wasser.

Versuchsanordnung: Die Pilzstämme wurden in 500-cc-Erlenmeyerkolben mit je 100 cc der betreffenden Nährlösung kultiviert. Von jedem Stamm wurden für jede Nährlösung 10 Parallelkolben beimpft. Impfmaterial: Sporensuspension, hergestellt aus 2wöchigen Malzagarkulturen. Impfdichte: 50—250 000 Sporen je Kolben. Die Kulturen wurden bei 24° C inkubiert.

Nach 2 und 4 Wochen wurden je 5 Kolben jeder Versuchsgruppe geerntet und Myzelgewicht und Aktivität bestimmt.

Resultate: Die in Tabelle 5 und 6 angegebenen Werte sind Durchschnittswerte dieser 5 Kolben. (Die Streuungen schienen klein zu sein; deshalb wurde auf eine Berechnung derselben, die große Arbeit erfordert hätte, verzichtet.)

Tabelle 5
Nach 2 Wochen

Stamm	Richard		Czapek		Raulin	
	Aktivität	Myzel	Aktivität	Myzel	Aktivität	Myzel
I	2,3	56,3	1.2	52,0	0	20,2
II	1,8	51,7	1,6	40,5	2,0	18,7
III	5,5	42,4	6,3	35,3	3,1	15,1
IV	6,0	74,2	4,0	66.8	0	24,4
V	1,0	228,3	1,2	191,2	0	96,5

Tabelle 6
Nach 4 Wochen

Stamm	Richard		Czapek		Raulin	
	Aktivität	Myzel	Aktivität	Myzel	Aktivität	Myzel
I	3,1	61,1	1.2	53,8	1	22,7
II	1.9	60,5	1,0	49,2	2,5	20,3
III	13	54.3	6.4	39,1	2	24,3
IV	12	87.6	8,5	75,0	1	29.0
V	1,2	478,2	1	311,7	1	115,1

Von den 5 Stämmen kommen nur Nr. III und IV als Toxinproduzenten in Frage. Die am besten geeignete Nährlösung ist die Richardsche. Die folgenden Versuche zur Aktivitätssteigerung wurden deshalb nur mit Stamm III und IV auf Richardscher Nährlösung, die durch Zusätze verschiedener Stoffe abgeändert wurde, ausgeführt.

Es wurden folgende Substanzen ausprobiert:

1. Corn-steep liquor: Dies ist ein im Handel erhältliches Abfallprodukt bei der Maisverzuckerung. Die hauptsächlichste Verwendung findet er bei der Großproduktion von Penicillin. Die chemische Zusammensetzung ist ziemlich unbekannt. Sicher enthält er eine große Zahl verschiedener Kohlehydrate (z. B. Maltose), sowie Vitamine und Wuchsstoffe. In unseren Versuchen wurde er in einer Konzentration von 10 g/l verwendet.

2. Watteextrakt: Dieser Stoff wird in unserem Institut häufig zur Aktivitätssteigerung bei der Antibiotikaproduktion verschiedener Pilze angewendet. Seine Herstellung geschieht folgendermaßen: 4 kg Rohwatteabfälle („Knöpfe, roh" der Firma Flawa in Schaffhausen) werden in etwa 12 l Leitungswasser während einer Stunde bei 120° C autoklaviert. Dann wird die Lösung durch Abpressen von der Watte getrennt, ihr Gehalt an Trockensubstanz bestimmt, und zur Aufbewahrung im Autoklav sterilisiert. Die Zugabe zur Nährlösung erfolgt in einer Konzentration von 1 g Trockensubstanz je Liter.

3. Vitamin B_1: Aneurin ist ein für die meisten Lebewesen unentbehrlicher Stoff, da es als Wirkungsgruppe im Decarboxylaseferment den Kohlenhydratstoffwechsel regelt. Verschiedene Pilze sind in bezug auf Aneurin oder eine oder beide seiner Komponenten heterotroph (W. H. Schopfer 1939). Der Nährlösung wurde es in einer Konzentration von 10 mg/l zugegeben.

4. Spurenelemente: Es hat sich vielfach gezeigt, daß Mikroorganismen oft nur in Gegenwart von Schwermetallionen aktive Substanzen produzieren. Für unsere Versuche kam eine Lösung folgender Zusammensetzung zur Anwendung: Eisensulfat hydr. 0,1 g, Kupfersulfat hydr. 0,015 g, Zinksulfat hydr. 0,1 g, Mangansulfat hydr. 0,01 g, Kaliummolybdat 0,01 g, dest. Wasser 100 cc. Von dieser Stammlösung wurde auf einen Liter Nährlösung 1 cc zugegeben.

Versuchsanordnung

Verwendete Nährlösungen:

1. Richardsche Nährlösung mit 5% Glukose (Ri_5),
2. dieselbe + 1% Corn-steep liquor (CSL),
3. dieselbe + 1‰ Watteextrakt (Wt),
4. dieselbe + 10 mg Aneurin je Liter (B_1),
5. dieselbe + 1‰ Spurenelementkonzentrat (Sp),
6. dieselbe + 10 mg Aneurin + 1 cc Spurenelementkonzentrat je Liter (B_1 + Sp).

Für jede Versuchsgruppe wurden in 24 500-cm-Erlenmeyerkolben je 100 cc der betreffenden Nährlösung hergestellt und zur Schonung der Vitamine und Wuchsstoffe durch 3maliges Erhitzen in Intervallen von 24 Stunden in strömendem Dampf sterilisiert. Je 12 Kolben jeder Gruppe wurden mit 1 cc Sporensuspension, hergestellt aus 3wöchigen Malzagarkulturen der Stämme III und IV, beimpft. Impfdichte: etwa 200000 Sporen je Kolben.

Die Kolben wurden bei 24° C inkubiert. Nach 2 und 4 Wochen wurden je 6 Kolben jeder Versuchsgruppe geerntet. Zur Bestimmung des Myzelgewichtes wurden je 6 Kolben gesamthaft durch einen Filter filtriert. Die Werte in Tabelle 7 geben die Durchschnitte aus diesen 6 Kolben an.

Resultate: siehe Tabelle 7.

Tabelle 7

Nährlösung	nach 2 Wochen				nach 4 Wochen			
	Stamm III		Stamm IV		Stamm III		Stamm IV	
	Aktivität	Myzel	Aktivität	Myzel	Aktivität	Myzel	Aktivität	Myzel
Ri_5	8,5	45,3	7,5	77,5	14,5	61,1	12,5	82,5
$Ri_5 + 1\%$ CSL	1,5	128,2	0	156,3	1	254,2	0	237,7
$Ri_5 + 1‰$ Wt.	3,8	110,7	2,2	129,1	4,3	209,5	2,0	250,2
$Ri_5 + B_1$	1	94,4	2,0	130,0	0	216,4	2,0	238,6
$Ri_5 +$ Sp.	9,0	85,9	8,2	129,8	12	98,5	13	125,9
$Ri_5 + B_1 +$ Sp.	1	101,1	1,7	134,6	1,9	189,6	3	246,9

Diskussion

Es gelang nicht, durch Abändern der Richardschen Nährlösung ein zur Toxinproduktion geeigneteres Nährmedium zu finden. Alle Substanzen, die das Pilzwachstum fördern, beeinflussen die Aktivität in entgegengesetzter Richtung. Bemerkenswert ist vor allem der Einfluß des Aneurins. In aneurinreicher Nährlösung bildet der Pilz keine oder nur geringe Mengen aktiver Substanzen, dagegen ist die Myzelproduktion vervielfacht. Es bestehen unseres Wissens keine Untersuchungen über Aneurin-Autotrophie oder -Heterotrophie von *Nectria cinnabarina*. Aus dem erwähnten Versuch läßt sich mit einiger Wahrscheinlichkeit schließen, daß unser Pilz in beschränktem Ausmaß zur Aneurinsynthese selbst befähigt ist. Die starke Wachtumssteigerung durch Aneurinzugabe zeigt jedoch, daß er seinen Aneurinbedarf nur suboptimal selbst zu decken imstande ist. Es mag sein, daß durch den Aneurinmangel in künstlicher Kultur der Kohlenhydratstoffwechsel nicht normal verläuft und daß dadurch Toxine anfallen. Ob dies auch unter natürlichen Verhältnissen, im Holz des befallenen Wirtes, der Fall ist, erscheint allerdings fraglich.

3. Zusammenhang zwischen Myzelgewicht, Zuckerverbrauch und Aktivität

Um den Einfluß des Kohlenhydratstoffwechsels auf die Toxinproduktion zu prüfen, wurde untersucht, ob zwischen Kulturen von aktiven und inaktiven Stämmen Unterschiede im Zuckerkonsum bestehen. Zu diesem Zweck wurde folgender Versuch angelegt:

Versuchsanordnung: Zwei der inaktiven Stämme (I und II) und die beiden aktiven Stämme III und IV wurden in 400-cc-Erlenmeyerkolben mit je 100 cc Richardscher Nährlösung bei 24 °C während 7 Wochen kultiviert. Beimpft wurde mit Sporensuspension, hergestellt aus Malzagarkulturen, mit einer Impfdichte von 100—200 000 Sporen je Kolben. Nach jeder Woche wurden 5 Kolben jedes Pilzes geerntet.

Die Bestimmung des Myzelgewichtes erfolgte nach der üblichen Methode durch Filtrieren sämtlicher 5 Kolben durch ein Filter. Da die Streuungen sehr klein zu sein schienen (von Auge konnte kein Unterschied zwischen Parallelkolben festgestellt werden), konnte auf eine Berechnung derselben verzichtet werden.

Die Bestimmung der Aktivität erfolgte durch den Sporenkeimungstest. Getestet wurden die vereinigten Filtrate von 5 Parallelkolben.

Der Zuckergehalt wurde nach folgender Methode bestimmt: 8 Reagensgläser werden mit je 3 cc Fehlingscher Lösung, hergestellt nach den Angaben in der Ph. H. V. (1933), beschickt. Diesen Reagensgläsern wird das auf die Hälfte verdünnte Kulturfiltrat in sinkenden Mengen beigegeben, z. B. 1,3, 1,2, 1,1, 1,0, 0,9, 0,8, 0,7 und 0,6 cc. Dann werden die Reagensgläser im Thermostaten während einer Stunde bei 95°C, darauf weitere 2 Stunden bei 60°C inkubiert. Während dieser Zeit reduzieren die Aldehydgruppen der Glukose das Kupfer, das als rotes Cu_2O ausfällt. Dadurch entfärbt sich die vorher intensiv blau gefärbte Lösung. Es wird die Verdünnungsstufe festgestellt, wo die Entfärbung total ist. Nach Angaben der Ph. H. V. braucht es zur Entfärbung von 1 cc Fehling 4,75 mg Glukose. Der Zuckergehalt der Lösung berechnet sich nach der Formel:

$$x = 2\,\frac{3 \cdot 4{,}75}{10\ KF} = 0{,}6\,\frac{4{,}75}{KF}$$

wobei x = Zuckergehalt in %
und KF = zugegebene Menge Kulturfiltrat in cc bedeuten.

Die Farbintensität des der total entfärbten Stufe benachbarten Reagensglases läßt sich abschätzen. Mit einiger Übung gelingt es, auf diese einfache Weise den Zuckergehalt auf ungefähr 2‰ genau festzustellen. Blindproben mit Glukoselösungen bekannter Konzentration ergaben ebenfalls diese Genauigkeit. Da der Pilz allenfalls aldehydhaltige Stoffwechselprodukte produzieren könnte, die die Zuckerwerte verfälschen, wurden von Zeit zu Zeit Proben durch Hefegärung zuckerfrei gemacht und mit Fehling auf eventuelle reduzierende Stoffe geprüft. Diese Kontrollen ergaben in keinem Fall nennenswerte Kupferfällungen. Aus den erhaltenen Zuckerprozenten wurde die Abnahme des Zuckergehaltes in Gramm je Kolben bestimmt.

Resultate: siehe Tabelle 8 und Abb. 11.

Tabelle 8

Zeit	Stamm I			Stamm II			Stamm III			Stamm IV		
Wochen	Myzel in mg	Aktivität E_{Sp}	Zuckerverbrauch in g	Myzel in mg	Aktivität E_{Sp}	Zuckerverbrauch in g	Myzel in mg	Aktivität E_{Sp}	Zuckerverbrauch in g	Myzel in mg	Aktivität E_{Sp}	Zuckerverbrauch in g
1	19	1.9	0,7	28	0,9	0,5	24	1,4	0,6	14	1,3	0,2
2	47	2,3	1,1	52	2,5	1,3	45	2,4	1,5	35	2,6	0,8
3	55	3	1,5	55	1,8	1,6	53	6,6	1.9	55	7	1,1
4	58	2,1	2,0	57	1.4	2	54	8,5	2,2	57	13	1,5
5	58	1,5	2,3	59	1,7	2.2	52	13	2,6	59	14	1,8
6	59	1,4	3	58	2	2,5	54	14	2,9	63	15	2,3
7	60	1,5	3,7	59	1,4	3	54	14	3,3	64	14	2.5

Der Kurvenverlauf der Myzelproduktion und des Zuckerverbrauches ist bei allen 4 Stämmen derselbe. Überall kommt nach 2—4 Wochen das Myzelwachstum zum Stillstand, während der Zuckerkonsum annähernd linear weiterläuft. Es besteht somit in dieser Beziehung kein Unterschied zwischen

aktiven und inaktiven Stämmen. Die Toxinproduktion setzt bei den aktiven Stämmen in vermehrtem Maße erst dann ein, wenn das Myzelwachstum abklingt, um dann asymptotisch auf den Maximalwert anzusteigen.

Diese Versuchsanordnung ermöglicht nicht, den Einfluß des Kohlenhydratstoffwechsels auf die Aktivität zu prüfen. Solche Untersuchungen könnten wahrscheinlich nur mit Hilfe einer Warburg-Apparatur erfolgreich durchgeführt werden.

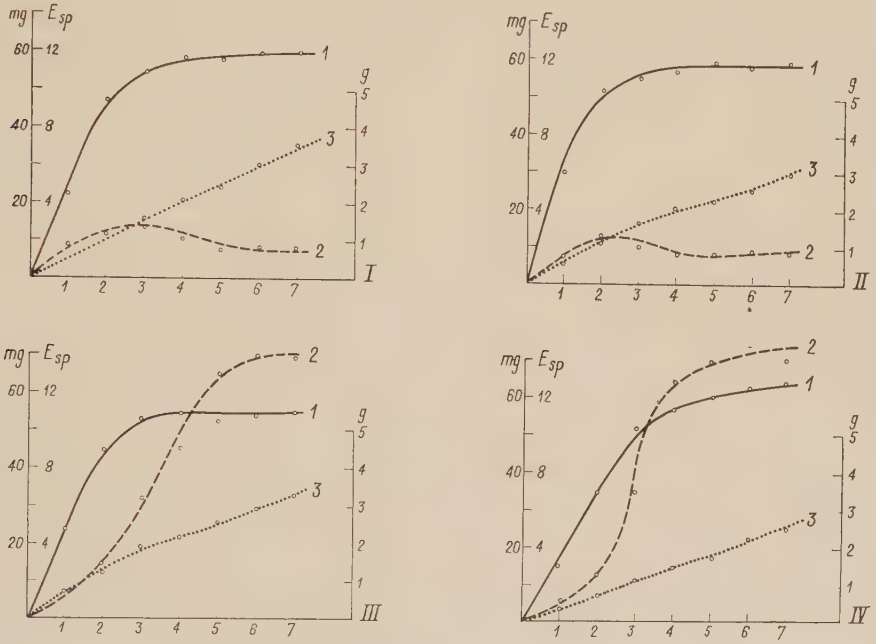


Abb. 11
Zusammenhang zwischen Myzelgewicht, Zuckerverbrauch und Aktivität. Pilzstämme I, II, III und IV. Abszisse: Inkubationszeit in Wochen. Kurve 1 = Myzelgewicht in mg/Kolben; Kurve 2 = Aktivität in E_{Sp}; Kurve 3 = Zuckerverbrauch in g/Kolben

D. Isolierung der aktiven Stoffe

Der chemische Teil der vorliegenden Arbeit wurde ausgeführt von Herrn Karl Zehnder, dipl. ing. chem. im organisch-chemischen Institut der Eidgenössischen Technischen Hochschule unter Leitung der Herren Prof. Dr. L. Ruzicka und Prof. Dr. Pl. A. Plattner. Es sei ihm an dieser Stelle der beste Dank ausgesprochen für seine zuverlässige Arbeit.

1. Produktion größerer Mengen aktiver Kulturfiltrate

Alle bisherigen Versuche zur Isolierung aktiver Stoffe wurden mit Kulturfiltraten des Pilzstammes Nr. III ausgeführt. Diese wurden folgendermaßen hergestellt: Zweiliter-Glaxogefäße werden mit je 500 cc Richardscher Nährlösung mit 5% Glukose (Zusammensetzung siehe S. 175) beschickt und während 20 Minuten bei 120° C im Autoklav sterilisiert. Beimpft wurden sie mit je 1 cc Sporensuspension, hergestellt aus 3—4wöchigen Malzagarkulturen.

Die Impfdichte betrug ungefähr 100—200000 Sporen je Gefäß. Die beimpften Kolben wurden in einem dunkeln Raum bei 24°C inkubiert. Von der zweiten Woche an wurde regelmäßig in Abständen von 3—4 Tagen eine Probe entnommen und getestet. Die Ernte des Ansatzes erfolgte dann, wenn die Kultur ihre maximale Aktivität von 12—14 E_{Sp} erreicht hatte. Dies war in der Regel 4—6 Wochen nach der Beimpfung der Fall. Das Myzel wurde vom Nährmedium mittels Filtration durch eine feinmaschige Nylongaze getrennt. Die vereinigten Filtrate wurden getestet und zur Aufarbeitung abgeliefert. Normalerweise betrug ein Ansatz 15—25 l.

2. Aufarbeitung der Kulturfiltrate

Ein erster Aufarbeitungsversuch wurde auf der Grundlage des Welketestes durchgeführt. Er mußte aber schon nach kurzer Zeit wieder aufgegeben werden. Die Teste erwiesen sich infolge der Empfindlichkeit der Blätter und der allzu geringen Spezifität der Welkesymptome als zu unzuverlässig. Zudem war wegen der vorgerückten Jahreszeit das Testmaterial rar und sehr uneinheitlich. Sobald der zuverlässige Sporenkeimungstest gefunden war, wurden die Versuche wieder aufgenommen.

a) Adsorptionsmethode

In eigenen Vorversuchen konnte festgestellt werden, daß der aktive Stoff quantitativ an Aktivkohle adsorbiert werden kann, indem man Kulturfiltrate über Nacht mit 1% Kohle auf der Schüttelmaschine schüttelt und dann filtriert. Das Filtrat erwies sich als total inaktiv. Aus der Kohle konnten die aktiven Anteile mit Aceton wieder eluiert werden.

Beispiel einer Aufarbeitung (ausgeführt von K. Zehnder):

5,70 l Kulturfiltrat mit einer Aktivität von 13 E_{Sp} wird mit 25g Aktivkohle, Marke „Nuchar", die mit einer Mischung von Essigsäure und Methanol gereinigt worden war, während einer Stunde geschüttelt. Dann wird die Kohle auf ein Cellitfilter gesaugt und das inaktive Filtrat verworfen. Die Nuchar-Cellit-Mischung wird mit wenig kaltem Alkohol gewaschen und im Vakuum über $CaCl_2$ getrocknet. Dann wird die Kohle im Soxhlet-Apparat während 38 Stunden mit Benzol extrahiert. Das Benzol wird abdestilliert, und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Dieser besteht aus 549 mg eines gelbbraunen zähflüssigen Öls. 1 mg dieses Stoffes gelöst in 110 cc Wasser setzt die Sporenkeimung auf die Hälfte herab, hat also nach unserer Definition 110 E_{Sp}.

Bilanz: aus Kulturfiltrat an Kohle adsorbiert $5700 \cdot 13\,E_{Sp} = 74000\,E_{Sp}$
aus der Kohle eluiert $549 \cdot 110\,E_{Sp} = 60000\,E_{Sp}$
Ausbeute: 82%

Die Extraktion mit Benzol hat gegenüber der Acetonextraktion, die rascher vonstatten ginge, den großen Vorteil, daß das eluierte Produkt bedeutend reiner ist. Aceton löst sehr viele Begleitstoffe aus der Kohle heraus, während diese bei der Benzolextraktion größtenteils adsorbiert bleiben.

b) Ausschüttelung

Die aktiven Stoffe können auch direkt durch Ausschütteln mit Benzol aus dem Kulturfiltrat bei pH 3,5 herausgeholt werden. Diese Methode stößt aber wegen der starken Emulsionsbildung auf große Schwierigkeiten. Der Benzolverbrauch ist ziemlich groß; man braucht ungefähr 5 mal mehr Benzol als Kulturfiltrat. Auch ist der Zeitaufwand beträchtlich, da die Emulsionen immer während längerer Zeit stehengelassen werden müssen.

Die Bilanz eines von K. Zehnder auf diese Weise aufgearbeiteten Kulturfiltrates ergab eine Ausbeute von etwa 80%.

Um den Benzolverbrauch einzuschränken kann man das Kulturfiltrat ohne Aktivitätsverlust im Vakuum auf $^1/_8$ seines Volumens eindampfen. Die aktiven Stoffe gehen auch in diesem Fall annähernd quantitativ in Benzol über.

3. Reinigung der Rohprodukte

Zur Reinigung des Benzolextraktes wurde versucht, diesen in seine sauren, neutralen und basischen Bestandteile zu trennen.

Dazu wird der Extrakt in einer Mischung von Benzol und Äther 1 : 1 gelöst und mit 2n-Natronlauge ausgeschüttelt. Nachher wird die organische Phase gründlich mit Wasser gewaschen. Alle wäßrigen Extrakte werden vereinigt und mit 5n-Salzsäure auf pH 1 eingestellt. Die dadurch frei werdenden organischen Säuren werden wieder in eine Äther-Benzol-Mischung extrahiert. Nach Trocknung mit Na_2SO_4 wird das Lösungsmittel im Vakuum eingedampft. Zurück bleibt ein amorphes, zähflüssiges Produkt, die sauren Anteile des Rohextraktes.

In der Benzol-Äther-Lösung des Rohextraktes bleiben somit die neutralen und basischen Anteile zurück. Die letzteren werden durch Ausschütteln mit 2n-Salzsäure und darauffolgendem Nachwaschen mit Wasser in die wäßrige Phase gebracht. Diese wird mit Natronlauge auf pH 10 eingestellt und die organischen Basen durch Ausschütteln mit Äther wieder herausgeholt. Nach dem Trocknen der Ätherlösung mit Na_2SO_4 wird das Lösungsmittel abgedampft. Zurück bleiben die basischen Anteile in Form eines gelben Harzes.

In der zurückbleibenden, mit NaOH und HCl extrahierten Benzol-Äther-Lösung bleiben die neutralen Anteile zurück. Diese werden nach dem Trocknen mit Na_2SO_4 durch Abdestillieren des Lösungsmittels gewonnen.

a) Chemische Eigenschaften

Es gelang bisher noch nicht, die sauren und basischen Anteile kristallin darzustellen. Vorläufige qualitative Elementaranalysen ergaben folgende Resultate:

Saurer Anteil: Positive Stickstoffreaktion, eventuell Schwefel, kein Halogen. Der Hydroxamsäuretest auf Carboxylgruppen ist eindeutig positiv.

Basischer Anteil: Eindeutig positive Reaktionen auf Stickstoff und Schwefel; kein Halogen.

Löslichkeit: Der saure Anteil löst sich sehr gut in Benzol und Aceton, gut in Methanol, Äther und Petroläther, ziemlich gut in Wasser,

der basische Anteil sehr gut in Benzol, Petroläther und Aceton, gut in Methanol und Äther, ziemlich schlecht in Wasser.

b) Bilanz einer Trennung

Rohextrakt	733 mg mit 91 E_{Sp}/mg	= ∼	67000 E_{Sp}
Saure Anteile	254 mg mit 57 E_{Sp}/mg	= ∼	14000 E_{Sp}
in dem angesäuerten, extrahierten NaOH-Auszug zurückgeblieben			570 „
Basische Anteile	184 mg mit 120 „	= ∼	22000 „
im alkalisch gemachten, extrahierten HCl-Auszug zurückgeblieben			920 „
Neutrale Anteile	3,9 mg mit 8,1 „	=	32 „
	total zurückgewonnen: etwa		38000 E_{Sp}
	Ausbeute:		57 %

3. Kapitel

Toxinwirkung

A. Toxizität gegen Pflanzen

1. Wirkung des Kulturfiltrates

a) auf *Ribes*blätter

Die Symptome, die durch das Einstellen der Blätter in unverändertes Kulturfiltrat hervorgerufen werden, wurden schon im Abschnitt über den Welketest (S. 164) erwähnt. Diese Testmethode gibt aber nur ein sehr oberflächliches Bild der Toxinwirkung, da die aufgenommene Giftmenge nicht quantitativ gemessen wird.

Im folgenden Versuch wurde die Giftaufnahme genau gemessen, und die Symptome in Abhängigkeit von der Toxinmenge beobachtet.

Versuch 1

Versuchsfrage: Wie verhalten sich *Ribes*blätter bei einer Aufnahme von 2, 4 und 8 E_{Sp} je Gramm Pflanze aus Kulturfiltrat mit einer Aktivität von 12 E_{Sp}?

Versuchsanordnung: Johannisbeerblätter der Sorte Rote Holländer, die im Innern des Stockes an Kurztrieben auf mehrjährigem Holz gewachsen waren, wurden mit einem Rasiermesser abgeschnitten und unmittelbar darauf gewogen. Vor dem Einstellen in Kulturfiltrat wurden die Blätter über Nacht im Untersuchungsraum akklimatisiert. Dann wurden sie in graduierte Welkegläschen eingestellt und so lange dort belassen, bis sie eine ihrem Gewicht entsprechende Giftmenge aufgenommen hatten. Die Aufnahmezeit und die bis zu diesem Zeitpunkt auftretenden Symptome wurden notiert. Darauf wurden die Blätter in Leitungswasser eingestellt. 24 und 48 Stunden später wurden die endgültigen Schädigungen abgelesen. Dieser

Versuch wurde in einem Kellerraum mit einer konstanten Temperatur von 21° C und einer relativen Feuchtigkeit von 50—60% durchgeführt. Die Beleuchtung bestand aus 2 Taglicht-Fluoreszenzröhren im Abstand von 50—60 cm von den Blättern.

Das Gewicht der untersuchten Blätter schwankte zwischen 0,5 und 0,8 g. Die aufgenommene Flüssigkeitsmenge betrug somit für die 1. Stufe (2 E_{Sp}/g Pflanze) 0,08—0,13 cc, für die 2. Stufe (4 E_{Sp}/g Pflanze) 0,17—0,27 cc und für die 3. Stufe (8 E_{Sp}/g Pflanze) 0,33—0,53 cc.

Für jede Toxinmenge wurden 5 Parallelblätter beobachtet. Die Streuungen erwiesen sich als sehr groß; es war nicht gut möglich, ein Bonitierungsschema anzugeben. Die im folgenden dargestellten Resultate geben deshalb mehr den Gesamteindruck der auf 5 Blättern beobachteten Schädigungen wieder.

Resultate:

2 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: $1^1/_2$—$2^1/_2$ Stunden.

Symptome nach der Aufnahme: 3 der 5 Blätter waren deutlich erschlafft, die Blattränder leicht eingerollt. Verfärbungen ließen sich nicht beobachten;

nach 24 Stunden: Sämtliche Blätter hatten sich wieder erholt. Keine Schädigungen feststellbar;

nach 48 Stunden: Keine Schädigungen.

4 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 4—7 Stunden.

Symptome nach der Aufnahme: Alle Blätter schlaff mit eingekrümmten Blatträndern. Keine Verfärbungen feststellbar;

nach 24 Stunden: Blattspreiten wieder turgeszent; bei 2 der 5 Blätter Blattränder noch leicht eingekrümmt. Keine Verfärbungen;

nach 48 Stunden: Turgor wieder ganz hergestellt. Auf einem Blatt zwei braune etwa 2 mm Durchmesser aufweisende nekrotische Flecken auf den Interkostalfeldern.

8 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 18—34 Stunden.

Symptome nach der Aufnahme: Alle Blätter schlaff mit eingekrümmten Blatträndern. Interkostalfelder größtenteils diffus braun verfärbt;

nach 24 Stunden: Blätter beim Stielansatz zum Teil noch grün und mehr oder weniger turgeszent. Bräunung der Interkostalfelder deutlicher ausgeprägt;

nach 48 Stunden: Die Blattspreiten zeigen große, ungefähr $^3/_4$ des Blattes bedeckende nekrotische Flecken. Die grünen Stellen sind am Blattrand schlaff bis eingedorrt, beim Stielansatz turgeszent.

b) auf Bohnenblätter

Versuch 2

Ein zum vorangehenden analoger Versuch wurde mit Bohnenblättern ausgeführt. Zur Verwendung kamen die primären Blätter 4wöchiger, im Warmhaus kultivierter Pflanzen. Die Stengel der Pflanzen wurden oberhalb der Ansatzstelle der Keimblätter mit einem Rasiermesser abgeschnitten und die Sprosse oberhalb des primären Blattpaares gekappt.

Das Gewicht der zum Testen zubereiteten Pflanzen betrug 1,8—3 g, die aufzunehmende Flüssigkeitsmenge für die 1. Stufe 0,3—0,5 cc, für die 2. Stufe 0,6—1 cc und für die 3. Stufe 1,2—2 cc.

Die übrigen Bedingungen sind dieselben wie beim *Ribes*versuch.

Resultate:

2 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: $1^1/_2$—2 Stunden.

Symptome nach der Aufnahme: Blätter zum Teil schlaff, ohne anderweitige Schädigungen;

nach 24 Stunden: Blätter wieder turgeszent;

nach 48 Stunden: Keine Schädigungen.

4 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 5—8 Stunden.

Symptome nach der Aufnahme: Alle Blätter stark schlaff, ohne Verfärbungen;

nach 24 Stunden: 1 Blatt wieder mehr oder weniger turgeszent, die andern schlaff und zum Teil vertrocknet;

nach 48 Stunden: 1 Blatt an den Blatträndern leicht eingedorrt, die andern verdorrt.

8 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 20—32 Stunden. Nach dieser Zeit hatten erst 3 Blätter die ihnen zukommende Toxinmenge aufgenommen, die andern transpirierten nicht mehr und wurden ebenfalls in Wasser gestellt.

Symptome nach der Aufnahme: Alle Blätter schlaff, zum Teil verdorrt. Auf den Interkostalfeldern große, eingesunkene Flecken;

nach 24 Stunden: Alle Blätter größtenteils verdorrt. Die Flecken heben sich infolge ihres pergamentartigen Aussehens deutlich vom übrigen Gewebe ab;

nach 48 Stunden: Dasselbe Bild.

2. Wirkung der sauren Substanz

a) auf *Ribes*blätter

Versuch 3

Versuchsfrage: Wie verhalten sich *Ribes*blätter bei einer Aufnahme von 2, 4 und 8 E_{Sp} je Gramm Pflanze des sauren Anteils in wäßriger Lösung von 12 E_{Sp}?

Versuchsanordnung: Gleich wie bei Versuch 1. Als Testlösung diente eine mit Phosphatpuffer auf pH 5,8 gestellte Lösung des sauren Anteils mit 12 E_{Sp}. 1 cc dieser Lösung enthielt 0,21 mg dieser Substanz. Alle übrigen Bedingungen waren dieselben.

Resultate:

2 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: $^1/_2$—$1^1/_2$ Stunden.

Symptome nach der Aufnahme: Keine Schädigungen;

nach 24 und 48 Stunden: Keine Schädigungen.

4 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: $2^1/_2$—5 Stunden.

Symptome nach der Aufnahme: Keine Schädigungen;

nach 24 und 48 Stunden: Keine Schädigungen.

8 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 7—11 1/2 Stunden.
Symptome nach der Aufnahme: Undeutliche braune Flecken auf 4 der 5 Blätter;
nach 24 Stunden: Nekrotische Flecken bis ungefähr 1/4 der Blattfläche bei 4 Blättern; das 5. Blatt zeigt ganz vereinzelte kleine Flecken auf den Interkostalfeldern;
nach 48 Stunden: Nekrotische Flecken etwas größer geworden.

b) auf Bohnenblätter

Versuch 4

Versuchsanordnung: Testlösung wie bei Versuch 3, Testmaterial wie bei Versuch 2. Die übrigen Bedingungen waren dieselben.

Resultate:
2 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 1—1 1/2 Stunden.
Symptome nach der Aufnahme: Keine Schädigungen;
nach 24 und 48 Stunden: Keine Schädigungen.
4 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 3—4 Stunden.
Symptome nach der Aufnahme: Keine Schädigungen;
nach 24 Stunden: Keine Schädigungen;
nach 48 Stunden: Kleine nekrotische Flecken von etwa 2 mm Durchmesser, hauptsächlich in der Nähe des Blattrandes.
8 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 8—11 Stunden.
Symptome nach der Aufnahme: Vereinzelte leicht eingesunkene Flecken auf den Spreiten zweier Blätter;
nach 24 Stunden: Nekrotische Flecken, pergamentartig durchscheinend, bis 1/2 cm^2 groß auf allen Blättern. Die Nervatur zeichnet sich dunkel vom Blattgewebe ab;
nach 48 Stunden: Gleiches Bild, Flecken ausgeprägter.

3. Wirkung der basischen Substanz

a) auf *Ribes*blätter

Versuch 5

Versuchsfrage: Wie verhalten sich *Ribes*blätter bei einer Aufnahme von 2, 4 und 8 E_{Sp} je Gramm Pflanze des basischen Anteils in wäßriger Lösung mit 12 E_{Sp}?

Versuchsanordnung: Gleich wie bei Versuch 1. Als Testlösung diente eine mit Phosphatpuffer auf pH 5,8 gestellte wäßrige Lösung des basischen Anteils mit 12 E_{Sp}. 1 cc dieser Lösung enthielt 0,1 mg dieser Substanz. Die übrigen Bedingungen sind dieselben.

Resultate:
2 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 1—1 1/2 Stunden.
Symptome nach der Aufnahme: Keine Schädigungen;
nach 24 und 48 Stunden: Keine Schädigungen.
4 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 2 1/2—4 1/2 Stunden.

Symptome nach der Aufnahme: Keine Schädigungen;
nach 24 Stunden: Keine Schädigungen;
nach 48 Stunden: Auf 3 Blättern deutliche nekrotische Flecken von 1—3 mm Durchmesser.

8 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 10—18 Stunden.
Symptome nach der Aufnahme: Alle Blätter leicht schlaff. Blattränder zum Teil eingekrümmt. Diffuse Braunfärbung auf den Interkostalfeldern dreier Blätter;
nach 24 Stunden: Blätter größtenteils wieder erholt, nur 2 Blätter sind leicht schlaff. Auf allen Blättern braun gefärbte nekrotische Flecken;
nach 48 Stunden: 1 Blatt vom Blattrand her eintrocknend, 1 Blatt schlaff. Nekrotische Flecken deutlicher, 4—10 mm Durchmesser.

b) auf Bohnenblätter

Versuch 6

Versuchsanordnung: Testmaterial wie Versuch 2, Testlösung wie Versuch 5, übrige Bedingungen gleich.

Resultate:

2 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 1—2 Stunden.
Symptome nach der Aufnahme: Keine Schädigungen;
nach 24 und 48 Stunden: Keine Schädigungen.

4 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 3—5 $^1/_2$ Stunden.
Symptome nach der Aufnahme: Alle Blätter leicht erschlafft, keine Verfärbungen;
nach 24 Stunden: 1 Blatt leicht schlaff, die andern wieder erholt, keine Verfärbungen;
nach 48 Stunden: Alle Blätter wieder erholt. Bei 3 Blättern kleine eingesunkene Flecken nur am Blattrand.

8 E_{Sp}/g: Aufnahmezeit: 10—16 Stunden.
Symptome nach der Aufnahme: Alle Blätter schlaff, noch keine Andeutung nekrotischer Flecken;
nach 24 Stunden: 2 Blätter vom Blattrand her eintrocknend, die übrigen mehr oder weniger erholt. Fleckenbildung auf den Interkostalfeldern und Blatträndern sämtlicher Blätter;
nach 48 Stunden: 1 Blatt ganz verdorrt, 1 Blatt geschädigt, die übrigen turgeszent. Nekrotische, pergamentartige, durchscheinende Flecken bis 8 mm Durchmesser.

4. Diskussion

a) Alle Symptome, die einen spontan von *Nectria* befallenen Johannisbeerstrauch kennzeichnen, werden auch durch Einstellen von Blättern (und Zweigen) in Kulturfiltrate dieses Pilzes ausgelöst. Dazu gehören einerseits Schlaffwerden und anschließendes Verdorren der Blätter am befallenen Ast (J. Line 1923), anderseits diffuse Bräunungen der Interkostalfelder, die von Fleckennekrosen gefolgt sein können (J. Uri 1949). Die durch

Kulturfiltrate hervorgerufene Welke ist bei geringen Toxinmengen reversibel, die Fleckennekrose ist irreversibel.

b) Der saure Anteil des Extraktes aus Kulturfiltrat bewirkt ausschließlich Fleckennekrosen ohne vorangehende Bräunung. Diese sind irreversibel und treten häufig etwas verzögert auf.

c) Der basische Anteil bewirkt bei größeren Toxinmengen leichte Schlaffheit, die bis zu einem gewissen Grad reversibel ist, ferner Fleckennekrosen, denen eine diffuse Verfärbung vorangehen kann.

d) Charakteristisch ist die Zeit, die die einzelnen Pflanzen benötigen, um die ihnen bestimmte Giftmenge aufzunehmen. Die Aufnahmegeschwindigkeit ist bei Kulturfiltrat sehr stark, bei basischer weniger und bei saurer Substanz kaum herabgesetzt. Man darf deshalb vermuten, daß die Welke, die in Kulturfiltrat stark, bei basischer Substanz schwächer und bei saurer gar nicht in Erscheinung tritt, eine Folge der gestörten Wasseraufnahme ist.

e) Die „Dosis minima", d. h. die zum Auslösen der ersten, sichtbaren Fleckennekrose benötigte Giftmenge liegt sowohl beim Kulturfiltrat, wie auch bei der sauren und basischen Substanz bei ungefähr 4 E_{Sp}/g. Da 1 mg der sauren Substanz 57, der basischen Substanz 120 E_{Sp} hat, beträgt die Dosis minima für den sauren Anteil etwa 70 mg je Kilogramm Pflanze, für den basischen Anteil etwa 33 mg je Kilogramm Pflanze.

f) Das Kulturfiltrat, sowie die aus ihm isolierten Aufarbeitungsprodukte sind unspezifisch. Sie wirken auf Bohnen in derselben Weise wie auf *Ribes*. Die bei Kulturfiltrat und basischer Substanz beobachtete diffuse Braunfärbung tritt bei Bohnen nicht auf; sie scheint eine für Johannisbeere typische Reaktion zu sein.

B. Toxintransport

Eine Frage, die bei allen toxigenen Welkekrankheiten von ausschlaggebender Bedeutung ist, ist die, wie das Toxin vom Ort seiner Entstehung (in unserem Fall dem Holz des befallenen Astes) in die Blätter, den Ort seiner Wirkung gelangt. Um diese Frage abzuklären, ist es nötig, die aktiven Stoffe auf dem ganzen Weg nachweisen zu können. Bei der infektiösen Tomatenwelke ist dies äußerst schwierig, da für das Lycomarasmin weder ein mikrobiologischer Nachweis, noch eine spezifische chemische Reaktion bekannt sind (E. Gäumann und Mitarbeiter 1946, 1947, 1950). Im Fall des Patulins, eines ausgesprochen unspezifischen Plasmagiftes, gelang es G. Miescher (1950), dieses in Preßsäften Patulin-vergifteter Tomatensprosse mit Hilfe eines Testes gegen *Escherichia coli* quantitativ nachzuweisen. Hier war es also möglich, zu beweisen, daß das Patulin als solches, unverändert transportiert wird.

Zur Untersuchung der *Nectria*-Welke besitzen wir im Sporenkeimungstest einen zuverlässigen mikrobiologischen Toxinnachweis. Für die Prüfung von Preßsäften eignet er sich allerdings nicht, da es schwer hält, aus den verholzten Zweigen und wenig saftreichen Blättern von Johannisbeerpflanzen einigermaßen quantitative Auszüge herzustellen. Die in Abb. 12 dargestellte

Versuchsanordnung gestattet jedoch, das Toxin im Transpirationsstrom mengenmäßig festzustellen. Das Prinzip ist folgendes:

Ein Johannisbeerzweigstück wird mittelst Isolierband in einen durchbohrten Korkzapfen luftdicht eingespannt und in ein Saugkölbchen, wie es zur Chamberland-Filtration verwendet wird, eingestellt. Durch den Seitenstutzen wird das Kolbeninnere mit Preßluft unter Druck gesetzt. Dieser Überdruck soll den Wurzeldruck und die Saugkraft des terminalen Blattwerks reproduzieren. Die Toxinlösung tritt durch die untere schräge Schnittfläche in den Zweig ein und verläßt ihn durch die obere horizontale. Dort wird sie in eine mittelst Gummischlauch mit dem Zweigende verbundene Pipette aufgenommen und getestet. Ein Blattbüschel unmittelbar vor dem Zweigende ermöglicht, die durch die Toxinaufnahme bewirkten Schädigungen festzustellen.

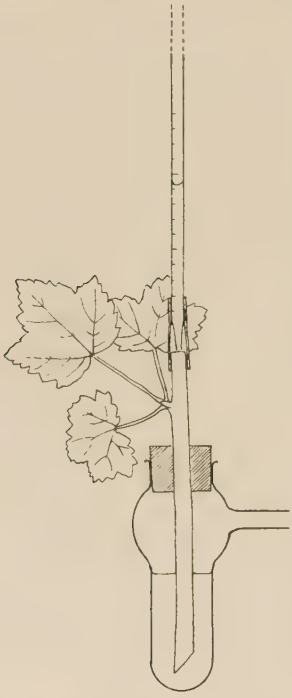


Abb. 12
Schematische Darstellung der Versuchsanordnung für die Toxintransportversuche

Für die Transportversuche mit Kulturfiltrat, saurer und basischer Substanz wurde folgendermaßen vorgegangen:

Als Testmaterial dienten Johannisbeerzweigstücke aus 2jährigem Holz, geschnitten auf eine Länge von 12—13 cm, mit einem Durchmesser von 4—6 mm und einem Gewicht von 3,5—5 g. Jeder Zweig besaß ein Blattbüschel aus 4 möglichst gleich großen Blättern mit einer Gesamtfläche von 30 – 50 cm^2. Diese Zweige wurden in die Kolben eingespannt und während einer Stunde unter Druck mit Wasser gesättigt. Während dieser Zeit flossen 3—5 cc Wasser durch die Zweige. Anschließend wurden die Zweige gewogen; die angegebenen Gewichte beziehen sich auf diesen Sättigungswert. Dann wurden die Kölbchen mit der zu testenden Lösung so weit gefüllt, daß die untere Schnittfläche ganz in die Flüssigkeit eintauchte. Der Meniskus der Flüssigkeitsoberfläche wurde mit einem aufgeklebten Papierstreifen markiert. Darauf wurde die aufzunehmende Flüssigkeitsmenge zugegeben und die Apparatur unter Druck genommen. Die Druckluft stammte aus einem Kompressor, der einen annähernd konstanten Druck von 0,2 atü liefert. Der Druck wurde fortwährend mit einem Quecksilbermanometer geprüft. Er schwankte in der Versuchsperiode zwischen 15,5 und 17,2 cm Hg.

Sobald die benötigte Flüssigkeitsmenge durchgepreßt war, wurde der Versuch unterbrochen, die Testlösung durch Wasser ersetzt und die Pflanze erneut eingespannt. Dann wurde so lange Wasser durchgepreßt, bis die oben austretende Flüssigkeit toxinfrei war.

Mit dieser Versuchsanordnung ist es möglich, folgende Größen zu bestimmen:

1. Die aufgenommene Toxinmenge in E_{Sp}, aus der aufgenommenen Flüssigkeitsmenge und deren Aktivität.
2. Die herausgelöste Toxinmenge in E_{Sp} aus der austretenden Flüssigkeitsmenge und deren Aktivität.
3. Die Toxinmenge, die in der Pflanze zurückbleibt, die also einzig für die Schädigungen verantwortlich sein kann, aus der Differenz der obigen Größen.
4. Der zeitliche Verlauf des Toxintransportes, indem man die austretende Flüssigkeit portionenweise testet.
5. Die durch die Aufnahme verursachten Schädigungen auf den Blättern.

1. Versuche mit Kulturfiltrat

Vorversuch

Dieser Versuch sollte Auskunft geben, wie groß die Durchflußgeschwindigkeit ist, wie viele Kubikzentimeter Lösung es braucht, bis die austretende Flüssigkeit dieselbe Aktivität hat, wie die Testlösung, und wieviel Wasser benötigt wird, um sämtliches freies Toxin wieder aus der Pflanze herauszulösen.

Versuchsanordnung: Testpflanze: Gewicht 3,9 g, Länge 13 cm, Dicke 5,5—6,2 mm. Blattbüschel aus 4 Blättern. Testlösung: Kulturfiltrat von Stamm IV auf Ri_5 mit einer Aktivität von 17,5 E_{Sp}. Druck: 0,2 atü. Testbedingungen: Raumtemperatur 21°C, relative Feuchtigkeit 50—60%, Beleuchtung mit 2 Fluoreszenzröhren im Abstand von 60 cm von den Blättern.

Nach dem Sättigen der Zweige mit Wasser wurde ununterbrochen Kulturfiltrat durchgepreßt. Dieses wurde in Portionen von je 1,2 cc in der Pipette aufgenommen und jede Portion separat getestet. Nachdem 7 mal 1,2 cc durch die Pflanze geströmt waren, wurde der Zweig in Wasser gestellt und 3 mal je 1,2 cc, sowie 2 mal 3 cc der austretenden Flüssigkeit abgefangen. Darauf wurde der Versuch abgebrochen, der Zweig aus dem Kolben entfernt und zur Beobachtung in Wasser gestellt. Die Sporenkeimungsteste wurden wegen der geringen Flüssigkeitsmenge mit $^1/_2$-cc-Pipetten durchgeführt, was die Genauigkeit nicht beeinträchtigte.

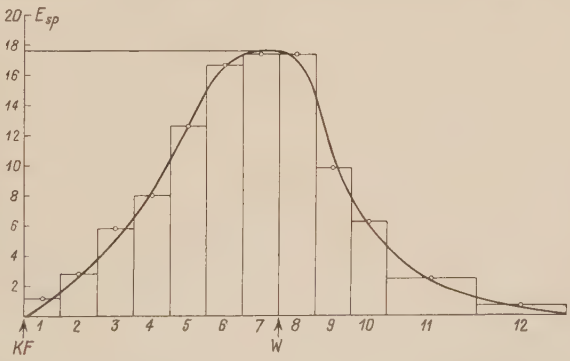


Abb. 13
Zeitlicher Verlauf des Toxintransportes. Erklärung im Text

Resultate: siehe Abb. 13. In dieser Abbildung gibt die Ordinate die Aktivität, die Abszisse die aufgefangenen Portionen an. Die Kurve beginnt im Moment des Einstellens in Kulturfiltrat (KF), beim Punkt W wurde die Pflanze in Wasser gestellt. Die große, rechteckige Fläche gibt die aufgenommene Toxinmenge in E_{Sp} an ($8{,}4 \cdot 17{,}5 = 147\ E_{Sp}$). Die Breite einer einzelnen Säule ist das Maß der Flüssigkeitsmenge (je 1,2 cc),

die Höhe das Maß der Aktivität, die Fläche der einzelnen Säule somit die Toxinmenge in E_{Sp} der betreffenden Portion. Die Flächensumme aller Säulen bedeutet demnach die Gesamtheit der herausgelösten Toxinmenge; diese beträgt 125 E_{Sp}.

Der Kurvenverlauf zeigt, daß nach Durchströmen von ungefähr 8 cc Kulturfiltrat die Aktivität der austretenden Flüssigkeit gleich ist, wie die der Testlösung, d. h., daß die Pflanze kein Toxin mehr adsorbiert. Nach Durchwaschen mit 3 mal 1,2 und 2 mal 3 cc Wasser sinkt die Aktivität gegen 0, d. h. alles in der Pflanze nicht gebundene Toxin ist herausgelöst.

Die Differenz zwischen der aufgenommenen und der wieder abgegebenen Toxinmenge beträgt in unserem Fall 22 $E_{Sp} = 5{,}4 E_{Sp}$/g Pflanze. Diese 22 Einheiten bewirkten auf den Blättern folgende Schädigungen: 24 Stunden nach Versuchsabschluß: Auf den Spreiten sämtlicher Blätter zeigten sich braune Flecken von 3—11 mm Durchmesser. Nach 48 Stunden war ungefähr $^3/_4$ der ganzen Blattfläche nekrotisch. Die Blätter zeigten nie irgendwelche Anzeichen einer Welke.

Die Untersuchung der Durchflußgeschwindigkeit ergab folgendes Resultat:

		Benötigte Zeit für den Durchfluß von 1,2 cc
Wasser zu Versuchsbeginn (zur Wassersättigung der Pflanze)		15—20 Minuten
Kulturfiltrat	Portion 1	17 „
„	„ 2	29 „
„	„ 3	37 „
„	„ 4	50 „
„	„ 5	45 „
„	„ 6	53 „
„	„ 7	54 „
Wasser	Portion 8	52 „
„	„ 9	46 „
„	„ 10 (1,2 cc)	31 „
„	„ 11 (1,2 cc)	33 „

Beim Durchpressen von Kulturfiltrat sinkt die Durchflußgeschwindigkeit auf ungefähr $^1/_3$. Sie erholt sich beim darauffolgenden Durchpressen von Wasser nicht mehr ganz.

Dieser Versuch zeigte, daß 10 cc Wasser genügen, um aus einem Zweig dieser Dimension alles nicht gebundene Toxin wieder herauszulösen. Für die folgenden Versuche wurde das Verfahren soweit vereinfacht, daß mit 3 Sporenkeimungstesten sämtliches austretende Toxin erfaßt wird. Der 1. Test bestimmte die Aktivität der durchgepreßten Flüssigkeitsmenge bis zum Ende der Toxinaufnahme, der 2. und 3. Test umfaßten je 5 cc des darauffolgenden „Spülwassers".

Diese Versuche sollen abklären, wieviel Toxin in beblätterten und wieviel in unbeblätterten Sprossen zurückbleibt. Auf diese Weise ist es möglich, den eigentlichen Toxinverlust während des Transportes im Holz zu bestimmen.

Versuch 1

Versuchsfrage: Wieviel Toxin bleibt in einem beblätterten Sproß beim Durchpressen von 4 cc Kulturfiltrat mit einer Aktivität von 17,5 E_{Sp} zurück?

Versuchsanordnung: Testpflanze: Johannisbeerzweig, 2jähriges Holz, 12,5 cm lang, 5,5—6,2 mm dick, Gewicht 4,9 g. Blattbüschel aus 4 Blättern, Totalgewicht der Blätter, bei Versuchsabschluß gewogen, 0,83 g. Testlösung: Kulturfiltrat von Stamm IV auf Ri_5 mit einer Aktivität von 17,5 E_{Sp}. Testbedingungen: wie beim Vorversuch.

Resultate:

Aufgenommen 4 cc à 17,5 E_{Sp} . . . . . 70 E_{Sp}
Zurückgewonnen . . . . . 33 E_{Sp}
In der Pflanze geblieben . . . . . 37 E_{Sp}
= 7,5 E_{Sp}/g Pflanze.

Symptome nach 24 Stunden: Undeutliche braune Flecken auf den Blattspreiten, keine Schlaffheit;
nach 48 Stunden: Fleckennekrosen auf 3 der 4 Blätter.
1 Blatt gesund, keine Schlaffheit.

Versuch 2

Versuchsfrage: Wieviel Toxin bleibt in einem unbeblätterten Sproß beim Durchpressen von 4 cc Kulturfiltrat mit einer Aktivität von 17,5 E_{Sp} zurück?

Versuchsanordnung: Testpflanze: Johannisbeerzweig, 2 jähriges Holz, 13 cm lang, 5,9—6,5 mm dick, Gewicht 5,3 g, unbeblättert. Testlösung: wie beim Versuch 1, Testbedingungen: wie beim Vorversuch.

Resultate:

Aufgenommen 4 cc à 17,5 E_{Sp} . . . . . 70 E_{Sp}
Zurückgewonnen . . . . . 43 E_{Sp}
In der Pflanze zurückgeblieben . . . 27 E_{Sp}
= 5,1 E_{Sp}/g Pflanze.

2. Versuche mit saurer Substanz

Versuch 3

Versuchsfrage: Wieviel Toxin bleibt in einem beblätterten Sproß beim Durchpressen von 4 cc Lösung von saurer Substanz mit einer Aktivität von 17,5 E_{Sp} zurück?

Versuchsanordnung: Testpflanzen: Johannisbeerzweig, 2jähriges Holz, 13 cm lang, 5,1—6,5 mm dick, Gewicht 5,0 g. Blattbüschel aus 4 Blättern. Totalgewicht der Blätter 0,76 g. Testlösung: Saurer Anteil eines Benzolextraktes in wäßriger Lösung mit 0,3 mg/cc. Aktivität: 17,5 E_{Sp}. Testbedingungen: wie beim Vorversuch.

Resultate:

Aufgenommen 4 cc à 17,5 E_{Sp} . 70 E_{Sp}
Zurückgewonnen . . . . . 38 E_{Sp}
In der Pflanze zurückgeblieben 32 E_{Sp} = 6,4 E_{Sp}/g Pflanze
= 0,11 mg/g Pflanze.

Symptome nach 24 und 48 Stunden: Keine Schädigungen.

Versuch 4

Versuchsfrage: Wieviel Toxin bleibt in einem unbeblätterten Sproß beim Durchpressen von 4 cc Lösung von saurer Substanz mit einer Aktivität von 17,5 E_{Sp} zurück?

Versuchsanordnung: Testpflanze: Johannisbeerzweig, 2jähriges Holz, 12 cm lang, 5,8—6,9 mm dick, Gewicht 4,7 g. Testlösung: wie beim Versuch 3, Testbedingungen: wie beim Vorversuch.

Resultate:

Aufgenommen 4 cc à 17,5 E_{Sp} . 70 E_{Sp}
Zurückgewonnen . . . . . 58 E_{Sp}
In der Pflanze zurückgeblieben 12 E_{Sp} = 2,5 E_{Sp}/g Pflanze = 0,04 mg/g Pflanze.

3. Versuche mit basischer Substanz

Versuch 5

Versuchsfrage: Wieviel Toxin bleibt in einem beblätterten Sproß beim Durchpressen von 4 cc einer Lösung von basischer Substanz mit einer Aktivität von 17,5 E_{Sp} zurück?

Versuchsanordnung: Testpflanze: Johannisbeerzweig, 2jähriges Holz, 13,5 cm lang, 4,9—6,3 mm dick, Gewicht 4,8 g. Blattbüschel aus 4 Blättern, totales Blattgewicht 0,82 g. Testlösung: Basischer Anteil eines Benzolextraktes in wäßriger Lösung mit 0,07 mg/cc. Aktivität: 17,5 E_{Sp}. Testbedingungen: wie beim Vorversuch.

Resultate:

Aufgenommen 4 cc à 17,5 E_{Sp} . 70 E_{Sp}
Zurückgewonnen . . . . . 26 E_{Sp}
In der Pflanze geblieben . . 44 E_{Sp} = 9 E_{Sp}/g Pflanze = 0,07 mg/g Pflanze.

Symptome nach 24 Stunden: Braune Flecken auf allen Blättern. Keine Schlaffheit;
nach 48 Stunden: Flecken nekrotisch, 3—9 mm Durchmesser.

Versuch 6

Versuchsfrage: Wieviel Toxin bleibt in einem unbeblätterten Sproß beim Durchpressen von 4 cc einer Lösung von basischer Substanz mit einer Aktivität von 17,5 E_{Sp} zurück?

Versuchsanordnung: Testpflanze: Johannisbeerzweig, 2jähriges Holz, 12,5 cm lang, 5,2—6,2 mm dick, Gewicht 4,7 g. Testlösung: wie beim Versuch 5, Testbedingungen: wie beim Vorversuch.

Resultate:

Aufgenommen 4 cc à 17,5 E_{Sp} . . 70 E_{Sp}
Zurückgewonnen . . . . . 50 E_{Sp}
In der Pflanze zurückgeblieben 20 E_{Sp} = 4,2 E_{Sp}/g Pflanze = 0,03 mg/g Pflanze.

Während der ganzen Versuchsperiode wurden einige beblätterte Johannisbeerzweige als Kontrollen in Richardscher Nährlösung und in Leitungswasser gleich behandelt wie die Testpflanzen. Es konnte in keinem einzigen Fall irgendeine Schädigung der Blätter beobachtet werden. Die bei den Kontrollpflanzen zurückgewonnenen Flüssigkeitsmengen wurden in regelmäßigen Stichproben im Sporenkeimungstest getestet; sie waren stets inaktiv.

4. Diskussion

Aus dem Vorversuch und den Versuchen 1—6 lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

a) Die Toxine des Kulturfiltrates und die einigermaßen gereinigten Toxine der sauren und basischen Substanz passieren den Holzteil im Transpirationsstrom unverändert.

b) Der Transport erfolgt nicht verlustfrei. Ein Teil der aktiven Substanzen wird verbraucht.

c) Der Toxinverlust ist in beblätterten Zweigen größer als in unbeblätterten. Dies ist darauf zurückzuführen, daß ein Teil des Toxins in die Blätter wandert und von dort nicht mehr zurückgeholt werden kann.

d) Von den Symptomgruppen „Welke“ und „Fleckennekrose“ tritt unter diesen Bedingungen nur die letztere auf.

e) Im Vorversuch konnte eine deutliche Herabsetzung der Durchflußgeschwindigkeit beim Durchpressen von Kulturfiltrat beobachtet werden. Ob diese Verminderung der Wasserleitfähigkeit auf die größere Viskosität des Kulturfiltrates oder auf eine toxigene Schädigung des Leitungsgewebes zurückzuführen ist, läßt sich nicht entscheiden.

f) Die bei einer spontan erkrankten Pflanze auftretende Blattwelke läßt sich mit Sicherheit auf gestörten Wassernachschub zurückzuführen, da bei forciertem Nachschub von Kulturfiltrat, das im normalen Welketest die Blätter schlaff werden läßt, Welkeerscheinungen unterblieben. Dies stimmt überein mit einer Beobachtung von J. Line (1923), wonach Zweige einer spontan erkrankten Johannisbeerpflanze, die unmittelbar nach dem ersten Auftreten von Welkeerscheinungen geschnitten und in Wasser gestellt wurden, sich wieder erholten.

Zusammenfassung

1. Der typische Krankheitsverlauf einer an *Nectria cinnabarina* erkrankten Pflanze läßt auf das Vorhandensein eines Welketoxins schließen.
2. 4 Stämme von *Nectria cinnabarina* und ein nicht eindeutig bestimmtes *Fusarium* wurden auf ihre Fähigkeit, welkeerzeugende Stoffe zu bilden, untersucht. 2 *Nectria*stämme lieferten aktive Kulturfiltrate; die beiden andern, sowie das *Fusarium* waren inaktiv.
3. Es konnte kein Welketest gefunden werden, der sich zur quantitativen Untersuchung der Toxinproduktion und als Grundlage für eine chemische Aufarbeitung eignet.
4. Die Kulturfiltrate der aktiven Stämme hemmen das Wachstum von *Pythium de Baryanum* und die Keimung der Brandsporen von *Usti-*

tago zeae. Auf Grund dieser antifungischen Eigenschaften wurde ein Sporenkeimungstest mit Brandsporen von *Ustilago zeae* ausgearbeitet.

5. Die Temperaturoptima für Myzelwachstum und Aktivitätsproduktion fallen annähernd zusammen.
6. Zur Toxinproduktion eignet sich am besten die Richardsche Nährlösung mit 5% Glukose. Zusätze, die das Pilzwachstum fördern, vor allem das Aneurin, hemmen die Bildung der aktiven Stoffe.
7. Die aktiven Stoffe lassen sich durch Adsorption an Aktivkohle und Elution mit Benzol, sowie durch direktes Ausschütteln der Kulturfiltrate mit Benzol anreichern. Durch fraktioniertes Ausschütteln bei verschiedenem pH lassen sie sich in eine saure und eine basische Komponente zerlegen, die sich chemisch unterscheiden.
8. Bei Welkeversuchen mit Johannisbeerzweigen löst das Kulturfiltrat dieselben Symptome aus, die bei einer spontan erkrankten Pflanze beobachtet werden, nämlich Schlaffheit und Fleckennekrosen. Die saure Substanz bewirkt nur Nekrosen, die basische Nekrosen und leichte Schlaffheit.
9. Die Toxine lassen sich in einem künstlich durch Druck erzeugten Transpirationsstrom nachweisen. Durch den Transport in Holz wird ein Teil der Toxinmenge desaktiviert.
10. Wenn Kulturfiltrat unter Druck nachgeschoben wird, lassen sich auf den Blättern keine Welkeerscheinungen beobachten. Die an spontan erkrankten Pflanzen auftretende Welke muß deshalb auf gestörte Wasserversorgung zurückgeführt werden. Die Fleckennekrosen sind toxigenen Ursprungs.
11. Die isolierten Toxine wirken auf Pflanzen unspezifisch. Sie besitzen keine antibakteriellen Eigenschaften.

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für spezielle Botanik an der Eidgenössischen Technischen Hochschule unter Leitung von Herrn Prof. Dr. E. Gäumann ausgeführt. Es sei ihm an dieser Stelle der beste Dank für die großzügige Überlassung von Materialien und Gerätschaften, sowie für seine wertvollen Ratschläge ausgesprochen.

Diese Arbeit entstammt einem Zyklus, der aus Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes unterstützt wurde; wir möchten den zuständigen Behörden auch hier unseren Dank wiederholen.

Literaturverzeichnis

Beck, R., 1903. Beiträge zur Morphologie und Biologie der forstlich wichtigen *Nectria*-arten, insbesondere der *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. Tharand. forstl. Jahrb. **52**, 161.

Behrens, J., 1895. Phytopathologische Notizen. Zeitschr. f. Pflanzenkr. **5**, 193.

Berducou, J., 1949. Recherches sur la mode d'action de certains champignons parasites. Compt. rend. de l'Acad. des Sci. **228**, 79—80.

Blumer, S. und Kundert, J., 1950. Methoden der biologischen Laborprüfung von Kupferpräparaten. Phytopath. Zeitschr. **17**, 161—199.

Brick, C., 1892. Über *Nectria cinnabarina* Fr. Jahrb. d. Hamburg. wiss. Anstalt **10**, 2—14.
Finney, D. J., 1947. Probit Analysis. A statistical treatment of the sigmoid response curve. Cambridge, University Press. 1947.
Frank, A. B., 1884. Über die Gummibildung im Holze und deren physiologische Bedeutung. Ber. d. deutsch. Bot. Ges. **2**, 321.
Gäumann, E., 1946. Pflanzliche Infektionslehre. 611 Seiten. Basel, Verlag Birkhäuser.
Gäumann, E. und Jaag, O., 1946. Über das Problem der Welkekrankheiten bei Pflanzen. Experientia **2**, 215—220.
Gäumann, E. und Jaag, O., 1947. Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens I—III. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 3—34, 132—148, 227—241.
Gäumann, E., Naef-Roth, S. und Miescher, G., 1950. Untersuchungen über das Lycomarasmin. Phytopath. Zeitschr. **16**, 258—288.
Hartig, R., 1889. Lehrbuch der Baumkrankheiten. 2. Auflage, S. 94. Verlag Julius Springer, 1889.
Line, J., 1923. The parasitism of *Nectria cinnabarina* (Coral spot), with special reference to its action on red currant. Transact. Brit. Mycol. Soc. **7**, 22—28.
Luz, G., 1934. Über den Stoffwechsel von *Fusarium lycopersici* und *Fusarium lini*. Phytopath. Zeitschr. **7**, 585—638.
Mayr, H., 1882. Über den Parasitismus von *Nectria cinnabarina*. Unters. a. d. forstbot. Inst. München **3**, 1—16.
Miescher, G., 1950. Über die Wirkungsweise des Patulins auf höhere Pflanzen, insbesondere auf *Solanum lycopersicum* L. Phytopath. Zeitschr. **16**, 369—397.
Münch, E., 1909. Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfänglichkeit der Holzpflanzen. Naturwiss. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtsch. **7**, 58—75, 87—114, 129—160.
Pharmacopoea Helvetica Editio Quinta. Bern, Verlag Stämpfli & Co. 1933.
Prilleux, E., 1875. Recherches sur la formation de la gomme dans les arbres fruitiers. Ann. des sci. nat. Série 6. Bot. **1**, 176.
Schopfer, W. H., 1939. Vitamine und Wachstumsfaktoren bei den Mikroorganismen, mit besonderer Berücksichtigung des Vitamins B_1. Ergebn. d. Biologie **16**, 1—172.
Thomas, H. E. and Burrel, A. B., 1929. A twig canker of apple caused by *Nectria cinnabarina*. Phytopath. **19**, 1125—1128.
Uri, J., 1948. Het Parasitisme van *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. Proefschrift, Rijksuniversiteit Utrecht.
Van Vloten, H., 1943. Verschillen in virulentie bij *Nectria cinnabarina*. Tijdschr. Pl. Ziekt. **49**, 163—174.
Wehmer, C., 1894. Zum Parasitismus von *Nectria cinnabarina* Fr. Zeitschr. f. Pflanzenkr. **4**, 74—82.
Winter, G., 1887. Dr. L. Rabenhorst's Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Band 1, **2**, 111. Verlag Eduard Kummer, 1887.
Wollenweber, H. W., 1924. Pyrenomyceten-Studien. Angew. Bot. **4**, 300—313.

Istituto di Patologia Vegetale della Università di Milano
Direttore: Prof. Elio Baldacci

Contributi alla conoscenza del genere *Endothia*

di

Mario Orsenigo

I. Analisi statistica delle dimensioni delle ascospore di alcune specie

Mit 5 Abbildungen

La classificazione delle specie del genere *Endothia* che Shear, Stevens e Tiller hanno riferita (1917) è basata sui caratteri morfologici, colturali e sul grado di patogenicità.

In effetti, già per mezzo dei caratteri morfologici, che abbiamo riassunto nella tabella I, Shear e coll. sono giunti a ben differenziare le specie *Endothia gyrosa*, *E. singularis*, *E. longirostris* ed *E. tropicalis*, per le quali, senza riportare in extenso i singoli caratteri, rimandiamo al lavoro citato ed alla nostra tabella I. Del resto le differenti caratteristiche di queste specie risulteranno alla lettura del lavoro più avanti.

Per *Endothia fluens* (Sow.) S. et S., e per *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And., invece non è rilevabile una differenza sensibile per mezzo dei caratteri morfologici, sì da poter distinguere le due specie. Così manca per queste specie una differenziazione nello stroma picnidico e di quello ascoforo, come si ha per le altre specie, e mancano gli altri particolari morfologici dei picnidi, delle picnospore e degli aschi; per le dimensioni delle ascospore si dirà più avanti.

Per contro Pantanelli (1912), studiando una specie di *Endothia*, riferita a *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And., proveniente dal Nord America, vorrebbe mettere in evidenza molti caratteri morfologici che egli considera distintivi per *E. parasitica* in confronto con le specie italiane da lui riferite a *Endothia radicalis* (Schw.) Fr. (= *E. radicalis* [Schw.] de Not., 1863).

Dice dunque Pantanelli: „esiste una serie di caratteri differenziali, che permette di separare la *E. parasitica* dalla nostra *E. radicalis*:

Endothia parasitica Murr.

Pseudostromi numerosi anche nell' interno della corteccia, fino al libro.

Cavità picnidiche (pseudopicnidii) numerose ed irregolari, disposte in varii piani in ogni stroma fino alla parte più profonda della corteccia.

Stromi picnidiferi: spessore 1,1—1,2 mm; diametro 2,1—2,2 mm.

Conidiofori: lunghezza 17—18 μ.

Endothia radicalis (Schw.) Fr.

Pseudostroma unico solamente nella parte più esterna della corteccia.

Picnidii aggregati, ma regolari e disposti in una sola serie subsuperficiale.

Stromi picnidiferi: spessore 0,4—0,5 mm; diametro 1,1—1,3 mm.

Conidiofori: lunghezza 10—12,5 μ.

Conidii: 3,8 × 1,7 μ.
Parafisi dei picnidii lunghe e numerose[1])
Stromi ascofori: spessore 1,8–2,0 mm. lunghezza 2,5—3,4 mm; larghezza 3—3,2 mm.
Peritecii disposti in 2 o 3 strati.
Collo del peritecio lungo in media 1,25 mm; ostiolo appena prominente o incospicuo (peritecii non rostellati).
Peritecii: larghezza 366—500 μ; profondità 366–535 μ.
Parete del peritecio incolora o leggermente bruna all'esterno nei campioni più guasti; spessore 34—43 μ; composta di ife intrecciate irregolarmente.
Strato proligero di più strati.
Asci: 44—50 × 8,5—9 μ.
Ascospore distiche, 9—10 × 4—5 μ.

Conidii: 3,8 × 1,3 μ.
Parafisi dei picnidii brevi.
Stromi ascofori: spessore 1,1–1,4 mm; lunghezza 2,5—3,2 mm; larghezza 1–2 μ.
Periteci monostichi, raramente subdistichi.
Collo del peritecio lungo in media 0,45 mm; ostiolo prominente (peritecii leggermente rostellati).
Peritecii: larghezza 370—635 μ; profondità 283—420 μ.
Parete del peritecio nera già prima della maturazione; spessore 27 μ; composta di ife regolarmente intrecciate ad angoli retti[2]).
Strato proligero di poche ife.
Asci: 23—28 × 6—9 μ[3]).
Ascospore subcongeste, 7,5–9 × 3—4 μ.

(da Pantanelli.)

Ma Shear e coll. osservano che „molti dei caratteri stromatici che egli descrive sono così variabili da non essere probatori (unriable)". Essi aggiungono inoltre che „dall'esame di un gran numero di campioni non sono riusciti a trovare una qualche differenza costante nell'aspetto della struttura dello stroma picnidico. Questo sembra dipendere soprattutto, in entrambe le specie, dal carattere della corteccia e dalle condizioni di umidità. Riguardo alle dimensioni, mentre gli stromi di *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. esaminati erano in media talvolta più grossi di quella di *E. fluens* (Sow.) S. et S., la variazione delle dimensioni dello stroma picnidico é press'a poco lo stesso nelle due specie, variando da 0,4 a 2 mm in altezza e da 0,2 a 3 mm in lunghezza". Ed ancora „La disposizione dei periteci citata da Pantanelli come carattere specifico sembra dipendere dalla natura della corteccia dell'ospite. Quando la corteccia é sottile e facilmente rotta, lo stroma tende ad estendersi così che i periteci si formano in uno strato solo, mentre se la corteccia é spessa e profondamente compatta, gli stromi sono più grossi ed i periteci si formano in due o più strati."

Insistendo nel mettere in evidenza le differenze tra gli stromi delle varie specie di *Endothia*, affermano „per quanto gli stromi di ciascuna specie siano molto variabili, essi sono sufficientemente distintivi, così che le specie native americane possono facilmente essere riconosciute anche in campo", mentre „gli stromi di *Endothia fluens*, *E. fluens mississippiensis* ed *E. parasitica* si rassomigliano talmente che le specie sono praticamente indistinguibili su questa base. Tutte queste specie sono caratterizzate da stromi parzialmente immersi, confluenti, che variano grandemente nell'aspetto, in relazione alla natura della corteccia dell'ospite. Variano da 0,4 a 2 mm di altezza e da 0,7 a 5 mm di

[1]) Non tutte si possono considerare come parafisi o pseudoparafisi, perché talvolta formano conidii alla loro estremità. Ciò in ambedue le specie. (da Pantanelli.)

[2]) Cfr. De Notaris, Sferiacei Italici, **I**, 1863, tav. III, fig. 3. (da Pantanelli.)

[3]) La specie tipica, come ho veduto in taluni „exsiccata" sotto *E. gyrosa*, dovrebbe avere gli asci più lunghi (25—35 μ) e le ascospore non costrette al setto; nei miei campioni, quasi tutte le ascospore sono costrette al setto." (da Pantanelli.)

Tabella I

	E. gyrosa	*E. singularis*	*E. fluens* [1])	*E. parasitica*	*E. longirostris*	*E. tropicalis*
stroma picnidico	corticale o subcorticale, pulvinato fino a tubercolare, sparso o gregario, talvolta confluente, arancio cromo da giovane, poi castano e quasi nero in ultimo, arancio cadmio nell'interno. 1,5—3 × 1,5 sino 2 mm	corticale, erompente, globoso-depresso, talora irregolare, sparso o gregario, con pareti esterne coriacee, spesse, fragile, rosso mogano all'esterno e scarlatto all'interno, 3—5 × 2 sino 4 mm	corticale o subcorticale, troncato-conico fino a pulvinato, di solito separato e gregario ma spesso confluente, compatto, da castano chiaro a più scuro in superficie e giallo fino ad arancio nell'interno, 0,75-3 × 0,5-2,5 mm	corticale, leggermente erompente fino a troncato-conico, di solito separato e gregario spesso confluente, in serie più o meno lineari; giallo fino a castano chiaro quando é vecchio. 0,75-3 × 0,5-2,5 mm	corticale, erompente, gregario talvolta confluente, subcoriaceo, in superficie arancio rosso, fino a castano, nell'interno arancio. 1—3 mm	corticale, pustulare fino a pulvinato, di solito gregario e sparso, di rado confluente, presto friabile, arancio cromo se fresco, bruno a maturità, 1—5 mm
picnidi	a camere irregolari a labirinto separate da pareti di diverso spessore ed aprentisi alla superficie con pori irregolari	numerose cavità quasi sferiche, 25—35 μ, con pareti disfacentisi in massa polverosa e tutto il gruppo libero per rottura irregolare della parete dello stroma, di solito lasciando una porzione a coppa attaccata alla corteccia	camere semplici o più o meno complesse, aprentisi per un poro irregolare o con una fessura all'apice dello stroma.	a cavità irregolari, 100—300 μ	cavità irregolari labirintiformi aprentisi per un singolo poro largo o per irregolare rottura dell'apice dello stroma	numerose cavità irregolari
sporofori	cilindrici o leggermente conici verso l'apice, 6—9 μ	corti, jalini, lesiniformi, 6—8 × 1 μ	di solito semplici, talora ramificati presso la base, cilindrici fino a subclavati, 10 sino 13 μ, talora 24 sino 30 μ	per lo più, subclavati, acuti all'apice, 12 sino 50 × 1,5 μ. Tra gli sporofori normali si trovano talora filamenti che raggiungono 50 μ	sottili, talora lesiniformi in alto, 8-10 μ	per lo più semplici, clavati, lesiniformi in alto 6—10 μ
picnospore	oblunghe, diritte o talora leggermente ricurve, jaline se isolate, color cuoio caldo fino a cuoio ocra in massa a seconda della massa e dell'umidità: 3—4 × 1,5—2 μ	ovoido-oblunghe jaline, il contenuto di ogni cavità picnidica aderente in una massa globosa quando il gruppo é libero. 3—4 × 1—1,5 μ	oblunghe fino a bacillari, giallo pallide in massa. 3—5 × 1,5 sino 2 μ.	oblungo cilindriche, arrotondate all'estremità, in massa giallo pallide al microscopio. Vecchi cirri rosso corallo. 3—5 × 1,5—2 μ	oblungo ellittiche, jaline o giallastre in massa, formanti cirri del colore dello stroma. 2—4 × 1—1,5 μ	continue, oblungo-cilindriche molto variabili di dimensioni e di forma giallo pallide in massa. 3,5—7 × 1,5—2 μ

stroma ascoforo	lo stesso o simile allo stroma picnidico	lo stesso o simile allo stroma picnidico	lo stesso o simile allo stroma picnidico	lo stesso o simile allo stroma picnidico, ma più largo e più frequentemente confluente, formante serie lineari in spaccature della corteccia	lo stesso o simile allo stroma picnidico	lo stesso o simile allo stroma picnidico
periteci	scuri, pochi o molti, in genere 25—50, di solito sorgenti dalla porzione inferiore dello stroma, in molti strati, 150—300 μ, con colli sottili con corto ostiolo conico	pochi o molti, 100 o più, irregolarmente disposti in molti strati, 200—300 μ. Colli con ostioli depresso conici	pochi o molti, 15—25, di solito nella porzione basale dello stroma, 300—400 μ, colli di 300—600 μ, terminanti con ostioli conici	globosi, a fiasco, in collasso quando sono secchi, 5—50 e talvolta più per stroma, irregolarmente su 1 o 3 serie, con colli di 300—600 μ, con ostioli acuti, 300 sino 400 μ	da 3 a 10 in stromi separati per lo più in una sola serie irregolare, colli lunghi 1,5 fino a quasi 1 cm, con ostiolo acuto 300—400 μ	in collasso quando sono secchi, 5—50 o più per stroma irregolarmente su 1 o 3 strati, con colli che sporgono 0,25—1 mm, con ostioli acuti, 250—500 μ
aschi	oblungo fusoidei o subclavati, molto cortemente stipitati, 25 sino 30 $\times$ 6—7 μ	oblungo cilindrici o subclavati fino a fusoidei, substipitati, 25—35 $\times$ 4,5—5,5 μ	oblungo fusoidei o subclavati, molto cortemente stipitati, 30 sino 40 $\times$ 6—8 μ	oblungo ellittici fino a subclavati, quasi sessili, 30—60 $\times$ 7 sino 9 μ	oblungo cilindrici fino a fusiformi, 25-35 $\times$ 5—7 μ	oblunghi o subclavati, quasi sessili, 40—50 $\times$ 7 μ
ascospore	irregolarmente biseriate, cilindriche fino ad allantoidi, jaline, lievemente gialle in massa, con sottile involucro gelatinoso a maturità, 7—11 $\times$ 2—3 μ	irregolarmente biseriate, cilindriche fino ad allantoidi con sottile involucro gelatinoso, giallo chiare in massa, jaline, 7—11 $\times$ 1,5—3 μ	irregolarmente biseriate, oblungo fusoidee o subellittiche, non ristrette al setto, jaline, con sottile involucro gelatinoso, 6—10 $\times$ 3—4,5 μ	irregolarmente biseriate, ellissoidi, ottuse, talora ristrette al setto, con involucro gelatinoso, jaline, 7—11 $\times$ 3,5 sino 5 μ	parzialmente uniseriate fino a biseriate, jaline, ovoidi fino ad ovoido-ellittiche, 6 sino 8,5 $\times$ 3—4 μ	subellittiche, ottuse, non ristrette al setto, con involucro gelatinoso, 7,5—10 $\times$ 3,5 sino 5 μ

[1]) compresa anche *Endothia fluens mississippiensis*.

lunghezza, quando sono confluenti. *E. tropicalis* ed *E. longirostris* possono essere riaccostate a questo gruppo per i loro caratteri stromatici".

Un altro asserito carattere distintivo fra *E. fluens* (Sow.) S. et S. ed *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And., é che la prima presenta ascospore non ristrette al setto, restringimento che sarebbe presentato talora dalle ascospore dell' *E. parasitica.* Questa forma delle ascospore, descritta da Anderson (1914), Clinton (1913), Heald (1913), non fu osservata da Shear e coll., mentre Biraghi sembra averla vista (1950). Nei molti esami fatti non siamo riusciti neppure noi a trovarla, ed in accordo con Shear e coll., pensiamo che questo carattere non possa essere assunto come carattere distintivo, sia perchè rappresenta un aspetto piuttosto non frequente della forma delle ascospore, sia perché non appare comunque essere specifico per *E. parasitica*, dal momento che Pantanelli potè osservare questa costrizione molto comune nei campioni da lui esaminati di *E. radicalis* (= *E. fluens* [Sow.] S. et S.)

Restano dunque da esaminare le dimensioni ed il rapporto lunghezza/larghezza delle ascospore. Ma Shear e coll. hanno assunto come dato differenziale un valore che oscilla tra due estremi da loro fissati e che comprendono tra loro il valore di massima frequenza ed a questo sono molto vicini. Gli AA hanno assunto cioé come carattere differenziale la *moda*, e questo ci lascia molto perplessi nell'attribuirgli probatorietà differenziale.

Abbiamo riesaminati i dati presentati da Shear e coll., effettuando una analisi statistica dei campioni esaminati direttamente dagli AA. Sarebbe stato certamente più interessante poter sottoporre all'indagine statistica anche i valori delle dimensioni delle ascospore ricavati dai campioni di erbario, ma ciò non ci é stato possibile perché i dati relativi non sono stati riportati da Shear e coll., né abbiamo potuto procedere noi stessi a tale esame diretto.

Nei calcoli fatti sono stati inclusi i dati delle specie secondo le designazioni degli AA: *E. fluens*, *E. fluens mississippiensis, E. parasitica*, *E. longirostris*, *E. tropicalis*; sono state escluse invece le specie *E. gyrosa* ed *E. singularis*, perché già ben differenziate dai caratteri dello stroma e degli altri elementi. D'altra parte il fatto che per ciascuna di queste ultime due specie si trattava di un solo campione, sconsigliava l'elaborazione statistica.

Avremmo voluto inserire nel calcolo anche le misurazioni da noi rilevate su un campione di *E. parasitica* prelevato a Maccagno, nel Varesotto, ma, come appare dal grafico 1, la curva delle frequenze delle lunghezze delle ascospore (curva C) é nettamente bimodale, e non può darci un affidamento di omogeneità; dobbiamo dunque scartarla dal calcolo statistico. Per le stesse ragioni abbiamo preferito scartare la curva 0, che figura nello stesso grafico 1 la quale rappresenta la curva delle frequenze delle lunghezze delle ascospore di un campione di *E. fluens*, il n. 1741, proveniente da Forest, Va., USA. rilevato da Shear e coll.

Nella tabella II, nella quale abbiamo riportato i dati relativi alle lunghezze delle ascospore delle diverse specie di *Endothia*, riferiti da Shear e coll., oltre a quelli relativi al campione da noi prelevato a Maccagno, sono esposti anche i risultati dei calcoli delle medie (M), degli scarti quadratici

medi (σ) e dei confronti di medie (σ_D) per i vari campioni. Non riteniamo opportuno riportare ed esporre qui in extenso i procedimenti di calcolo (per i quali rimandiamo ai testi di statistica)[1]). Nelle tabelle II e III (questa ultima si riferisce ai dati ed ai risultati del calcolo statistico per i rapporti lunghezza/larghezza delle ascospore di *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. ed *E. fluens* [Sow.] S. et S.), e nelle curve rappresentate nei grafici, abbiamo, per comodità, assunto come riferimento, una lettera dell'alfabeto per indicare i campioni, di cui elenco nelle stesse tabelle II e III.

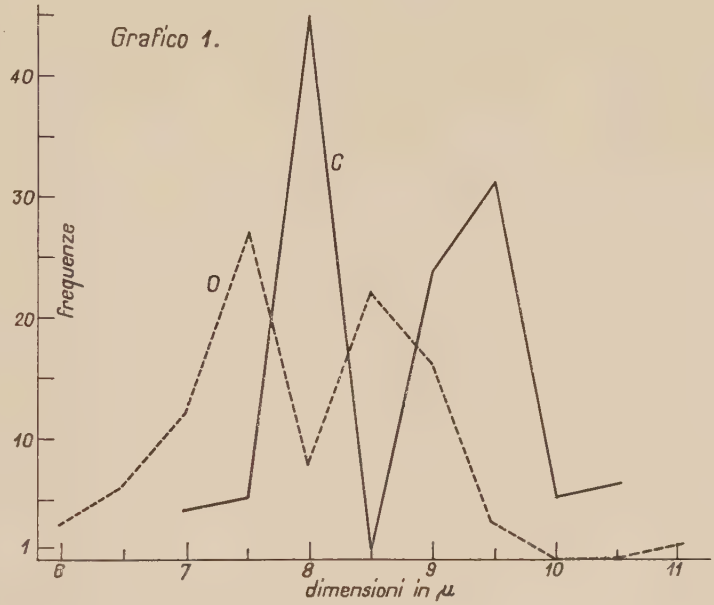


Grafico 1
Curva delle frequenze delle lunghezze delle ascospore di: *Endothia parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. campione C *Endothia fluens* (Sow.) S. et S. campione O

Nella tavola 1 sono invece esposti in riassunto grafico i risultati del calcolo statistico per i confronti di medie (σ_D): in essa abbiamo disposto i singoli campioni secondo le medie delle lunghezze delle ascospore (M.) in ordine crescente, ed abbiamo indicato con + + le differenze molto significative, con + quelle significative e con — — quelle non significative Si può così osservare a prima vista i risultati dell'analisi statistica. Ad un estremo, ben staccati dagli altri campioni, stanno i campioni V e Z, quelli di *E. tropicalis* provenienti da Ceylon; all' altro estremo, pur presentando una certa omogeneità con i campioni vicini, si trovano i campioni U e T. Sono i campioni di *E. longirostris* provenienti l'uno dalla Guiana Francese, e l'altro da Porto Rico. Le specie si differenziano inoltre, come si é detto (vedi tabella 1), l'*E. longirostris* per le picnospore più piccole e per la notevole lunghezza dei colli dei periteci, la *E. tropicalis* per la notevole maggiore grandezza delle ascospore, oltre che per l'ospite.

Al centro del disegno, si trova una serie continua di campioni che presentano l'uno coll'altro differenze non significative, che possiamo cioè ritenere simili, e che fa per così dire „da ponte" ai due gruppi di maggiore adden-

[1]) In particolare ci siamo serviti del testo di Gallo (1950), al quale vanno i nostri ringraziamenti per i consigli e l'aiuto che ci ha dati nello svolgimento dei calcoli.

Tabella
Lunghezze della

Specie[1])	Campione		Ospite	lettera di riferimento	lunghezza in micron		
	proveniente da	No.			6	6,5	7
E. parasitica	Santungying, Cina	2151	*Castanea sp.*	A	—	—	8
„	Pantanelli	1658	*C. dentata*	B	—	—	3
„	Maccagno (Varese)	—	*C. vesca*	C	—	—	4
„	Odenton, Md. (USA.)	1710	*C. dentata*	D	—	—	—
„	Gordonsville, Va. (USA.)	1739	*C. dentata*	E	—	—	7
E. fluens	Como	1637	*C. vesca*	F	—	—	10
„	Como	1655	*C. vesca*	G	1	1	12
„	Stresa	1656	*C. vesca (ceppo)*	H	—	—	8
„	Blacksburg, Va. (USA.)	1927	*Quercus coccinea*	I	—	7	25
„	Asheville, N.C. (USA.)	1715	*C. dentata (morta)*	L	2	15	18
„	Taylorsville, N.C. (USA.)	1729	*C. dentata*	M	5	6	12
„	Connellsville, Pa. (USA.)	1702	*C. dentata*	N	12	18	19
„	Forest, Va. (USA.)	1741	*C. dentata*	O	3	6	12
„	Monticello, Va. (USA.)	1737	*C. dentata*	P	—	2	10
E. fluens mississippiensis	Blue Mountain, Miss. (USA.)	1782	*C. dentata*	Q	—	3	9
„	Blue Mountain, Miss. (USA.)	1806	*C. dentata*	R	4	2	18
B. pseudoradicalis	—	—	—	S	4	13	28
E. longirostris	Porto Rico	—	—	T	6	10	28
„	Guiana Francese	—	—	U	7	14	24
E. tropicalis	Ceylon	—	—	V	—	—	—
„	Ceylon	—	—	Z	—	—	—

[1]) Secondo la classificazione di Shear e coll.

Tabella
Rapporto lunghezza/larghezza

Specie[1])	Campione		Ospite	lettera di riferimento	valore del rapporto				
	proveniente da	No.			1,6	1,7	1,8	1,9	2
E. parasitica	Santunying, Cina	2151	*Castanea sp.*	A	2	11	17	33	22
„	Pantanelli	1658	*C. dentata*	B	2	8	16	29	23
„	Odenton, Md. (USA.)	1710	*C. dentata*	D	—	1	14	37	25
„	Gordonsville, Va. (USA.)	1739	*C. dentata*	E	—	10	18	31	24
E. fluens	Como	1637	*C. vesca*	F	—	—	—	—	1
„	Como	1655	*C. vesca*	G	—	—	—	2	3
„	Stresa	1656	*C. vesca (ceppo)*	H	—	—	5	4	11
„	Blacksburg, Va. (USA.)	1927	*Quercus coccinea*	I	—	1	6	16	16
„	Asheville, N. C. (USA.)	1715	*C. dentata (morta)*	L	—	—	3	6	11
„	Taylorsville, N. C. (USA.)	1729	*C. dentata*	M	—	2	3	16	8
„	Connellsville, Pa. (USA.)	1702	*C. dentata*	N	—	1	4	10	12
„	Monticello, Va. (USA.)	1737	*C. dentata*	P	—	—	4	15	18

[1]) Secondo la classificazione di Shear e coll.

samento di campioni che presentano sempre differenze non significative, e precisamente l'uno formato dalle curve S, N, R, I, ed L, corrispondenti ai campioni, rispettivamente:

E. pseudoradicalis
E. fluens proveniente da Connellsville, Pa., USA., campione n. 1685
E. fluens mississippiensis „ „ Blue Mountain, Miss., USA., „ „ 1702
E. fluens „ „ Blacksburg, Va., USA., „ „ 1927
E. fluens „ „ Asheville, N. C., USA., „ „ 1715

II
Ascospore di *Endothia*

lunghezza in micron										totale	M	σ	$\frac{\sigma^2}{n}$
7,5	8	8,5	9	9,5	10	10,5	11	11,5	12				
17	18	26	18	8	3	1	1	—	—	100	8,38	0,82	0,006724
8	15	19	21	15	7	4	3	—	—	95	8,832	0,91	0,0087
5	45	1	24	31	5	6	—	—	—	121	—	—	—
3	20	26	38	6	6	—	—	—	—	93	8,575	0,495	0,002634
17	16	32	21	10	7	3	1	—	—	114	8,535	0,865	0,006563
18	18	24	16	8	2	1	1	—	—	98	8,515	0,835	0,007114
26	19	15	18	5	2	1	—	—	—	100	8,11	0,845	0,007140
12	13	31	17	6	7	3	1	2	1	101	8,62	1,0	0,0099
27	6	5	1	—	—	—	—	—	—	71	7,43	0,55	0,00426
19	19	12	8	1	—	—	1	—	—	95	7,62	0,89	0,008337
25	18	18	8	3	2	—	1	—	—	98	7,84	0,935	0,008920
24	13	9	3	1	—	—	—	—	—	99	7,37	0,745	0,005606
27	8	22	16	3	—	—	1	—	—	98	—	—	—
16	19	21	16	9	4	1	—	1	—	99	8,33	0,915	0,008458
11	10	8	5	1	1	—	1	—	—	49	7,93	0,905	0,016714
13	5	8	1	—	—	—	—	—	—	51	7,4	0,705	0,009745
27	16	11	1	—	—	—	—	—	—	100	7,375	0,665	0,004422
31	14	10	1	—	—	—	—	—	—	100	7,335	0,67	0,004489
36	11	6	—	—	—	—	—	—	—	98	7,239	0,605	0,00353
3	9	22	35	20	9	2	—	—	—	100	8,975	0,63	0,003969
2	9	17	35	20	13	4	—	—	—	100	9,135	0,655	0,00429

III
nelle ascospore di *Endothia*

valore del rapporto												totale	M	σ	$\frac{\sigma^2}{n}$
2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9	3	3,1	3,2				
9	3	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	100	1,917	0,218	0,0004752
8	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	95	1,926	0,14	0,000206
12	3	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	93	1,949	0,44	0,00208
12	6	3	2	1	4	1	2	—	—	—	—	114	1,959	0,1	0,000087
7	8	12	10	11	20	12	9	4	2	2	—	98	2,527	0,241	0,000592
11	12	12	17	12	13	7	5	2	1	2	1	100	2,426	0,265	0,000702
23	13	12	13	1	6	4	3	3	2	—	1	101	2,272	0,148	0,000223
12	13	3	3	1	—	—	—	—	—	—	—	71	2,046	0,167	0,000392
12	9	12	15	11	8	3	2	2	1	—	—	95	2,3	0,266	0,000744
8	16	15	8	6	4	3	5	2	1	1	—	98	2,25	0,916	0,008561
12	24	14	8	7	3	3	—	—	—	1	—	99	2,20	0,236	0,000592
16	7	14	11	6	3	4	—	—	1	—	—	99	2,18	0,247	0,000616

Il secondo addensamento é formato dai campioni A, F, E, D, H, e comprende le *E. parasitica* provenienti dalla Cina (campione n. 2151), da Gordonsville (n. 1739) e da Odenton (n. 1710) in USA., oltre a due *E. fluens* provenienti dall'Italia, da Stresa (n. 1656) e da Como (n. 1637).

Il „ponte" é costituito dalla curve M, Q, G, e P, relative ai campioni di *E. fluens* provenienti da Taylorsville, N. C. (n. 1729) e da Monticello, Va. (n. 1737), in USA., e da Como (n. 1655) in Italia, oltre che da *E. fluens missis-*

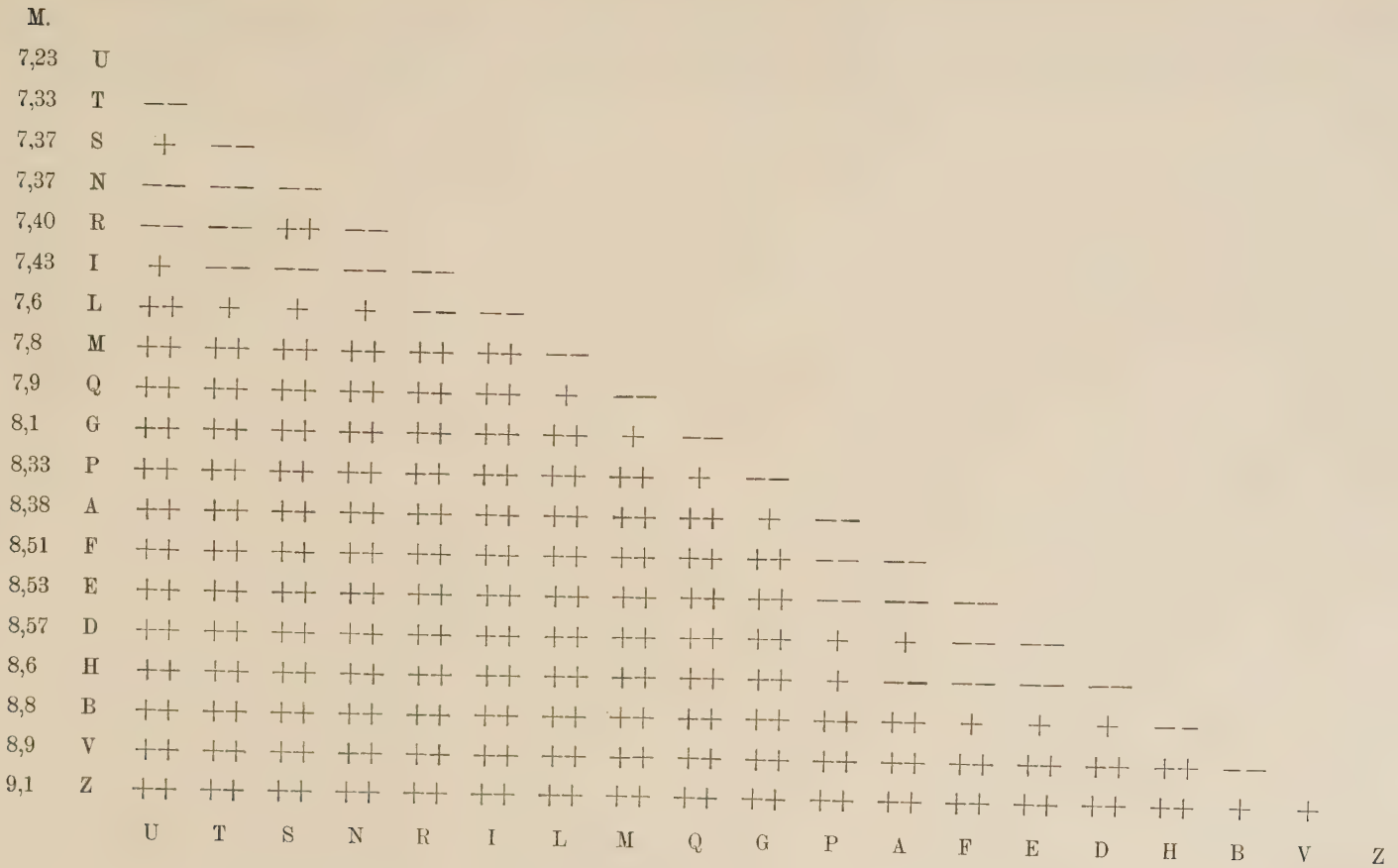


Tavola 1

Riassunto grafico dei risultati del calcolo di σ_D per le lunghezze delle ascospore

sippiensis, campione n. 1782. Il campione di *E. parasitica* (curva B) di Pantanelli si trova in basso, contiguo ai campioni di *E. tropicalis*.

Confrontiamo questi risultati del calcolo per σ_D con le curve di frequenza delle lunghezze delle ascospore (grafici 2 e 3) e rileviamo una certa corrispondenza, nel senso che appaiono sempre nelle curve di frequenza i gruppi di addensamento, analoghi ai risultati del calcolo per σ_D. Abbiamo infatti un gruppo più estremo nel quale sono comprese le curve rappresentanti i campioni S, N, R, I, L, oltre alle due curve della *E. longirostris*, mentre all'altra estremità troviamo ben separate le due curve dell' *E. tropicalis*. Presso queste si trova un complesso di curve che sono quelle dei campioni A, E, ed H, dalle quali si discosta solo un poco la curva del campione D. Tra questi raggruppamenti hanno posizione più incerta, con andamento più irregolare ed ampio, le curve M, Q, G, P e B, relative a quelle specie che costituiscono il „ponte" nella tavola 1, del calcolo di σ_D.

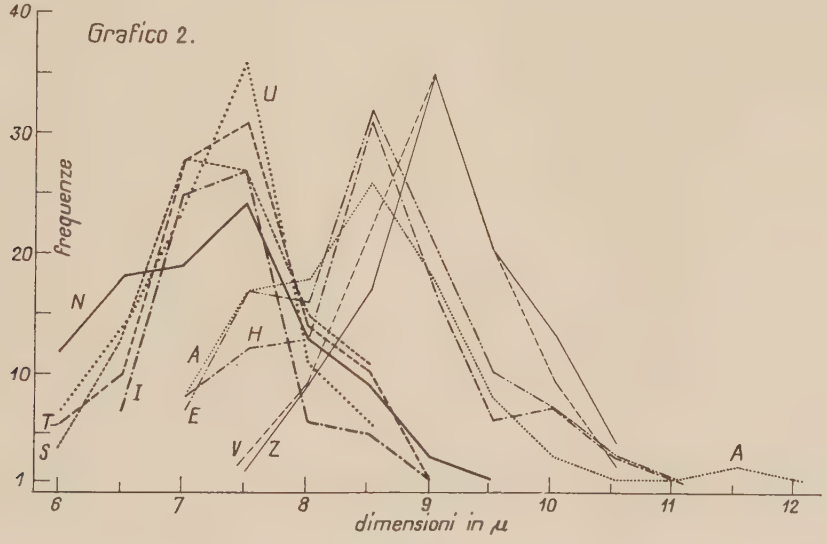


Grafico 2
Curva delle frequenze delle lunghezze delle ascospore di:

Endothia parasitica (Murr.) P. J. et H. W. And.	campioni A ed E
Endothia fluens (Sow.) S. et S.	campioni H, I ed N
Endothia pseudoradicalis Petri	campioni S
Endothia longirostris Earle	campioni T ed U
Endothia tropicalis S. et S.	campioni V ed Z

Vediamo ora i risultati del calcolo statistico per i rapporti tra lunghezza e larghezza nelle ascospore, che sono riportati nella tabella III.

Anche per questi calcoli abbiamo seguito lo stesso metodo del grafico precedente, disponendo cioé i campioni a seconda delle medie dei rapporti in ordine crescente. Appare subito che vi sono due gruppi distinti, un primo gruppo rappresentato dai campioni A, B, D ed E, molto omogeneo, a cui si può accostare anche il campione I, ed un secondo gruppo, rappresentato dai campioni P, N, M, H, L, G ed F, più irregolare.

Nel primo gruppo sono comprese tutte le *E. parasitica*, più un campione di *E. fluens*, quello di Blacksburg, mentre nell'altro gruppo rientrano tutti i campioni di *E. fluens*, sia americani che italiani. Si avrebbe così una quasi netta separazione tra le due specie. Ma osserviamo le curve corrispondenti

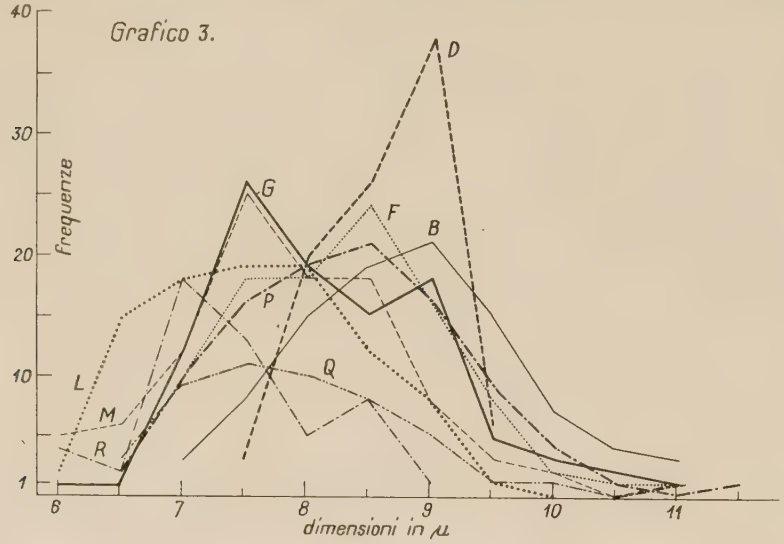


Grafico 3
Curve delle frequenze delle lunghezze delle ascospore di:
Endothia parasitica (Murr.) P. J. et H. W. And. campioni B ed D
Endothia fluens (Sow.) S. et S. campioni F, G, L, M ed P
Endothia fluens mississippiensis S. et S. campioni Q ed R

M.												
1,91	A											
1,92	B	−−										
1,94	D	−−	−−									
1,95	E	−−	−−	−−								
2,04	I	−−	++	−−	++							
2,18	P	++	++	++	++	++						
2,20	N	++	++	++	++	++	−−					
2,25	M	−+	−−	+	++	++	−−	−−				
2,27	H	++	++	++	++	++	−−	++	−−			
2,30	L	++	++	++	++	++	++	+	−−	−−		
2,42	G	++	++	++	++	++	++	++	++	−−	++	
2,52	F	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	+
		A	B	D	E	I	P	N	M	H	L	G	F

Tavola 2

Riassunto grafico dei risultati del calcolo di σ_D per i rapporti lunghezza/larghezza delle ascospore

(grafici 4 e 5) e rileviamo allora un gruppo molto omogeneo, ben separato, formato dalle curve dei campioni di *E. parasitica*, mentre tutte le curve dei campioni di *E. fluens* sono *molto irregolari ed il più delle volte bimodali.* Queste curve non danno affidamento per il calcolo statistico, perché non omogenee e viene così a perdere importanza il confronto fatto sopra. L'andamento irregolare delle curve dei campioni della *E. fluens* potrebbe giustificare i contrasti rilevati nell'esame dei calcoli per le sole lunghezze, dove infatti una „*fluens*"

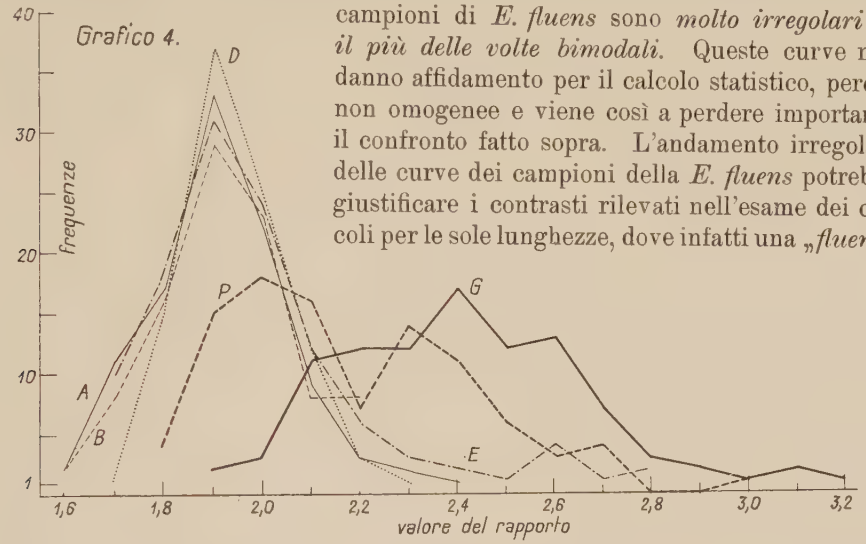


Grafico 4
Curva delle frequenze del rapporto lunghezza/larghezza nelle ascospore di:
Endothia parasitica (Murr.) P. J. et H. W. And. campioni A, B, D, E
Endothia fluens (Sow.) S. et S. campioni G ed P

che in questo ultimo grafico (tavola 2) si riaccosta alla „*parasitica*" (vedi curva I), é in mezzo alle altre „*fluens*", mentre due „*fluens*" italiane, quella di Stresa e quella di Como campione n. 1637, sono in mezzo alla *E. parasitica.*

I dati relativi ai rapporti tra lunghezza e larghezza non danno perciò affidamento per un calcolo statistico. Un ulteriore esame degli elementi riferiti da Shear e coll. escludeva anche la possibilità di effettuare l'analisi della varianza per mancanza di omogeneità nei dati cercati (distribuzione geografica ed ospite).

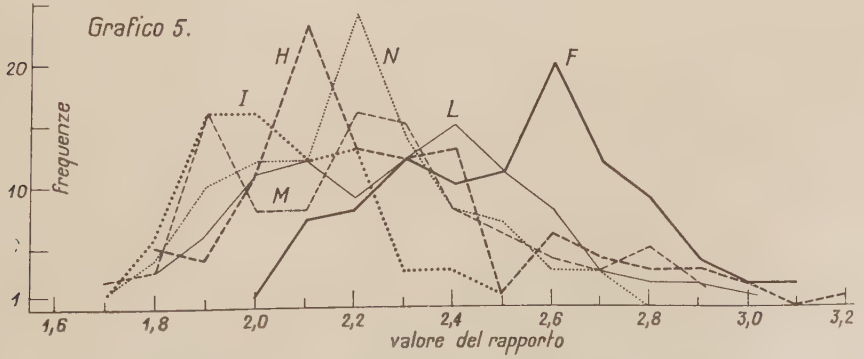


Grafico 5
Curve delle frequenze del rapporto lunghezza/larghezza nelle ascospore di:
Endothia fluens (Sow.) S. et S. campioni F, H, I, L, M ed N

Dopo quanto esposto dobbiamo quindi concludere che non é possibile rilevare una differenza nelle misure delle ascospore, tale che giustifichi la separazione delle due specie, *E. fluens* (Sow.) S. et S. ed *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. L'analisi statistica conferma invece le differenze fra queste e la altre due specie *E. longirostris* ed *E. tropicalis*, e fra queste due, i dati quantitativi delle lunghezza delle ascospore apparendo tipici e significativamente differenti da quelli delle altre specie.

Riassunto

Viene messo in evidenza che per mezzo dei caratteri morfologici possono essere differenziate le specie *Endothia gyrosa*, *E. singularis*, *E. longirostris* ed *E. tropicalis*. Per *E. fluens* e per *E. parasitica* non é rilevabile una differenza sensibile per mezzo dei caratteri morfologici, sì da poter distinguere le due specie, poiché manca soprattutto una differenziazione nello stroma picnidico, come si ha nelle altre specie.

L'elaborazione statistica dei dati riferiti da Shear e coll., relativi al rapporto lunghezza/larghezza delle ascospore nelle due specie, ha dimostrato che tale rapporto non può essere assunto come carattere differenziale tra esse, poiché i dati riferiti dagli AA sono poco omogenei e tali da non dare quindi affidamento per l'elaborazione statistica.

Attraverso l'elaborazione statistica dei dati relativi alle lunghezze delle ascospore delle diverse specie del genere *Endothia* si é inoltre potuto dimostrare che non é possibile rilevare una differenza nelle misure delle ascospore fra *E. fluens* (Sow.) S. et S. ed *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And., tale che giustifichi la separazione delle due specie. L'analisi statistica conferma invece le differenza fra queste e le altre due specie della "sezione" sensu Shear, *E. longirostris* ed *E. tropicalis*, e fra queste due, i dati quantitativi delle lunghezze delle ascospore apparendo tipici e significativamente differenti da quelli delle altre specie.

Summary

The writer makes evident *Endothia gyrosa*, *E. singularis*, *E. longirostris* and *E. tropicalis* can be distinguished by means of their morphological characters. *E. fluens* and *E. parasitica* resemble each other so closely that the species are practically indistinguishible on this basis, because they are above all wanting of differences in the pycnidial stromata, the other species have.

A statistical analysis of data, Shear et al. have referred, regarding the ratio of lengths to widths of ascospores in these two species, has shown the ratio cannot be esteemed a distinguishing character for the two species, because the data the AA have referred are not homogeneous and can give no guarantee for a statistical analysis.

A statistical analysis of data regarding the lengths of ascospores of the different species of genus *Endothia* has shown it is not possible to remark some difference between sizes of ascospores of *E. fluens* (Sow.) S. et S. and those of *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And., so that a separation of these species cannot be justified.

The statistical analysis has on the other hand confirmed the differences between these species (*E. fluens* and *E. parasitica*) and the other two species of the "section" sensu Shear, *E. longirostris* and *E. tropicalis*, and between these two species, because data of lengths of ascospores are typical and significatively different from those of other species.

Zusammenfassung

Man beweist, daß es möglich ist, die Arten *Endothia gyrosa*, *E. singularis*, *E. longirostis* und *E. tropicalis* morphologisch zu unterscheiden. Für *E. fluens* und *E. parasitica* sind keine merklichen Unterschiede in den morphologischen Kennzeichen wahrnehmbar; es ist also nicht möglich, diese zwei Arten voneinander zu unterscheiden, weil besonders eine Unterscheidung im Pycnidienstroma, wie sie bei den anderen Arten besteht, fehlt. Die statistische Verarbeitung der von Shear und Mitarbeitern mitgeteilten Daten, die das Verhältnis Länge/Breite der Ascosporen bei den zwei letzten Arten betreffen, zeigt, daß ein solches Verhältnis nicht als unterscheidendes Kennzeichen der zwei Arten gelten kann, weil die veröffentlichten Daten wenig homogen und daher statistisch nicht sehr vertrauenerweckend sind. Durch die statistische Verarbeitung der Längendaten der verschiedenen Ascosporen der Gattung *Endothia*, hat man beweisen können, daß es unmöglich ist, aus den Massen der Ascosporen eine Unterscheidung zwischen *E. fluens* (Sow.) S. et S. und *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. zu machen; eine Trennung zwischen diesen zwei Arten ist also nicht gerechtfertigt. Die statistische Analyse bestätigt dagegen die Unterscheidung zwischen diesen und den anderen zwei Arten der „Sektion" sensu Shear, *E. longirostris* und *E. tropicalis*; in diesen zwei Arten sind die quantitativen Daten der Ascosporenlängen kennzeichnend und deutlich verschieden von jenen der anderen Arten.

Letteratura citata

Anderson, P. J., 1914. Morphology and life history of the Chestnut-blight fungus. Comm. Invest. & Cont. Chestnut Tree Blight Disease, in Penn. Bull. **7**, 44 pp.

Biraghi, A., 1950. Nuovi ospiti di *Endothia parasitica*. — Ann. della Sper. Agr.N. S., IV, 109—118.

Clinton, G. P., 1913. Chestnut bark disease, *Endothia gyrosa var. parasitica* (Murr.) Clint. In Conn: Agr. Exp. Sta. Ann. Rpt. 1911/12, 359—453.

Gallo, V., 1950. Introduzione allo studio della statistica ematologica. Pavia.

Heald, F. de F., 1913. The symptoms of chestnut tree blight and a brief description of the blight fungus. — Penn. Chestnut Tree Blight Comm., Bull. **5**, 15 pp.

Pantanelli, E., 1912, Su la supposta origine europea del cancro americano del castagno Atti. R. Acad. Lincei, XXI, **12**, 869—875.

Shear, C.L., Stevens Neil, E., Tiller Ruby, J., 1917. *Endothia parasitica* and related species. U. S. Dept. Agr. Bull., 380, 88 pp.

II. Identificazione fra *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. ed *E. fluens* (Sow.) S. et S. e loro fusione in *E. radicalis* (Schw.) De Not. Considerazioni sulla patogenicità della specie e sulla classificazione del genere

Dall'esame dei caratteri morfologici e dai risultati dell'analisi statistica effettuata sulle dimensioni delle ascospore nella nota precedente, siamo portati a raggruppare in una sola entità specifica i campioni indicati da Shear e coll. (1917) con i termini specifici „*fluens*" e „*parasitica*". Per ciò che concerne i caratteri colturali, ci riserviamo di riferirne ampiamente in altro contributo. Qui ricordiamo che secondo Shear e coll. si potevano differenziare, su particolari substrati, *Endothia fluens* (Sow.) S. et S. ed. *Endothia parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And., per il colore del micelio, per la pigmentazione o i riflessi assunti dal substrato, per l'aspetto della massa stromatica.

substrato	*E. fluens*	*E. parasitica*
agar farina di mais	micelio giallo cromo scuro, una o due pustule picnidiche piccole	micelio aereo bianco, scarso, con molte pustule picnidiche prominenti, ammassate al centro.
agar patata	nessun riflesso metallico del substrato.	riflesso metallico del substrato.
pappa di mais	colorazione porporina del substrato. Poche masse stromatiche grandi, erompenti.	nessuna colorazione porporina del substrato, che diviene solamente verdastro chiaro sotto il micelio. Pustule piccole, molto numerose.

(da Shear e coll., 1917)

Tuttavia in numerose prove colturali che abbiamo effettuato con diversi isolamenti provenienti da varie località italiane, da porzioni di rami di *Castanea* fortemente ed indubbiamente colpite dal Cancro, e per le quali non vi era dubbio doversi trattare di *E. parasitica*, non abbiamo potuto ad esempio osservare il riflesso metallico asserito tipico da Shear e coll. per *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And., su agar patata. Al contrario, una colorazione porporina appariva in alcune colture su terreni diversi dalla pappa di mais quando le colture venivano inquinate da una muffa, riferibile a *Cephalosporium sp.* e talvolta in presenza di *Penicillium sp.*, come pure non costante era l'aspetto degli stromi picnidici, che talvolta erano come piccole masse di spore, altre volte come grosse masse stromatiche erompenti, con tutti gli stadi di passaggio. Del resto anche Baldassini (1948) ha osservata la colorazione del substrato, per *E. fluens*, su di un substrato sul quale non era stata osservata da Shear e coll., e cioé su agar farina di mais. Siamo dell'opinione che i caratteri colturali non siano costanti e lievi modificazioni della composizione del substrato portino a variazioni anche notevoli.

Per ciò che riguarda la matrice, mentre non vogliamo quì porre in discussione le specie *E. tropicalis* S. et. S. ed *E. singularis* (H. et P. Syd.) S. et S., che possiedono matrici ben specifiche (vedi tabella I), *E. longirostris* Earle per la quale specie la matrice é ignota, ed *E. gyrosa* (Schw.) Fr., per la quale esistono caratteri morfologici bene evidenti, come si é visto nella nota precedente, per *E. fluens* (Sow.) S. et S. ed *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H.

W. And. possiamo vedere che le matrici (tabella I) non sono strettamente specifiche. *Castanea dentata*, *C. sativa*, *Quercus prinus*, *Q. alba*, *Q. velutina* sono matrici comuni alle due. *E. fluens* (Sow.) S. et S. ha inoltre, oltre a quattro altre specie di *Quercus*, anche altre matrici, come *Alnus*, *Ulmus*, *Carpinus*, *Fagus* ecc. Ma anche *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. é stata ritrovata su altre specie di *Quercus*, oltre che su altre tre speci di *Castanea*, ed è inoltre citata su *Rhus tiphina* e *Carya ovata* da Anderson e Rankin (1914), e da Shear e coll. su *Acer sp.*

Tabella I

specie	matrice
Endothia longirostris Earle, 1900	matrice ignota
Endothia tropicalis S. et S., 1917	Elaeocarpus glandulifer
Endothia fluens (Sow.) S. et S.	*Quercus alba*, *Q. velutina*, *Q. pedunculata*, *Q. coccinea*, *Q. rubra*. *Q. marylandica*, *Castanea dentata*, *C sativa*, *C. sp.* *Alnus glutinosa*, *Ulmus campestris*, *Carpinus betulus*, *Aesculus sp.*[3]), *Fagus sp.*[3]), *Juglans sp.*[3]), *Corylus sp.*, *Pasania sp.*
Endothia parasitica (Murr.) P. J. et H. W. And. 1912	*Quercus alba*, *Q. prinus*, *Q. velutina* *Q. stellata*, *Q. sessiliflora*, *Q. pubescens*, *Q. ilex*, *Q. sp.* *Castanea dentata*, *C. sativa*, *C. pumila*, *C. mollissima*, *C. japonica.* *Rhus tiphina*[2]), *Carya ovata*[2]), *Acer sp.*[2]).
Endothia gyrosa (Schw.) Fr., 1849	*Quercus alba*, *Q. prinus*, *velutina*, *Q. coccinea*, *Q. falcata*, *Q. georgiana*, *Q. ilicifolia*, *Q. imbricata*, *Q. marylandica*, *Q. nigra*, *Q. phellos*, *Q. rubra*, *Q. virginiana.* *Castanea dentata* *Liquidambar styraciflua*, *Fagus americana*, *F. sylvatica*, *Vitis sp.*
Endothia singularis (H. et P. Syd.) S. et S., 1917	*Quercus gambellii*, *Q. leptophylla*, *Q. nitescens*, *Q. utahensis*, *Q. pungens.*

[1]) da Shear e coll., 1917.
[2]) da Anderson e Rankin, 1914.
[3]) da Traverso, 1906.

In definitiva *E. fluens* (Sow.) P. J. et H. W. And. parrebbe avere minore specificità che non *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. Tuttavia la specificità di *E. parasitica* non pare per altro ristretta, come si é detto, al gen. *Castanea*. Negli Stati Uniti d'America, dove *E. parasitica* era segnalata finora solo su *Quercus alba*, *Q. prinus* e *Q. velutina*, nella zona di distribuzione della *Castanea dentata*, dove il fungo esiste da più lungo tempo, si é trovato che anche *Q. stellata* può essere colpita dal patogeno e non più con manifestazioni sporadiche, ma con infezioni imponenti, tali che in una zona del Connecticut hanno raggiunto il 30% delle piante esistenti (Clapper, Gravatt e Stout 1946). Biraghi, nel 1950 har iscontrato anche per l'Italia il patogeno su rovere (*Quercus sessiliflora*, *Q. pubescens*) e su leccio (*Q. ilex*) in diverse località italiane, nel genovese e nell'avellinese, ed es., nelle quali ultime località (ed esattamente ad Avellino e a Baiano), Biraghi riscontrava che di una cinquantina di lecci, circa la metà si presentava infetta.

Secondo Biraghi le infezioni su *Quercus* si osservano nelle località in cui i castagni sono da tempo colpiti dalla malattia. Noi stessi abbiamo potuto osservare profondi ed estesi cancri su *Quercus sp.* a Civenna, nel Comasco, mentre Rui (1950) li segnala sui roveri del bosco del Montello, nel Veneto.

Biraghi ritiene che il patogeno sottostia ad un periodo di assuefazione prima di stabilirsi attivamente su individui del gen. *Quercus*, e che una volta superata questa fase critica esso acquisti poi attitudini decisamente parassitarie per il nuovo ospite. „E' del tutto verosimile — scrive — che si venga così a creare una nuova razza la quale presenti verso gli individui del gen. *Quercus* o di alcune sue specie, una virulenza della medesima intensità di quella che l'*E. parasitica* ha finora mostrato di avere nei riguardi del castagno" [1]).

Oltre a questi elementi già esaminati, nel tentativo di differenziare *E. fluens* (Sow.) S. et S. da *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And., è da ricordare anche il restringimento al setto delle ascospore, sul quale abbiamo già avuto modo di soffermarci nella nota precedente. A parte la non costanza del fatto, va detto che Pantanelli (1912) lo ritrovò presente anche in *Endothia radicalis* (Schw.) Fr. (che Shear e coll. riportano come sinonimo di *E. fluens*).

Infine un altro carattere è la formazione a ventaglio sotto la corteccia della matrice che presenta l'*E. parasitica*. Questi ventagli di micelio sono, secondo Shear e coll., così costanti e così caratteristici nell'aspetto, che forniscono il più probativo carattere per distinguere in campo *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. dalle specie vicine e può essere veramente considerato come un carattere specifico quando il fungo cresce su alberi viventi. Anderson e Anderson (1912) per primi richiamarono l'attenzione sul fatto che queste formazioni a ventaglio del micelio mancano in *E. fluens* (Sow.) S. et S.

Tuttavia Rankin (1914) ha messo in evidenza che quando il fungo cresce saprofiticamente o quando l'albero è in fase di quiescenza, questi ventagli non si formano. Anderson (1914) ritiene che la formazione di tali ventagli, osservata anche su *Quercus*, come riferiscono Shear e coll., Anderson e Rankin (1914) ed ultimamente anche Biraghi (1950), sia in relazione coll'habitus parassitario del fungo. Queste formazioni sono conosciute anche per altri funghi, come *Armillaria mellea* e *Rosellinia pepo*.

Da quanto è stato detto, dobbiamo concludere che mancano, a nostro avviso, elementi determinanti per la differenziazione specifica fra *E. fluens* (Sow.) S. et S. ed *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. Difatti, in ricapitolazione:

a) non vi sono elementi morfologici delle ascospore, qualitativi e quantitativi (misure) che servano alla differenziazione, né elementi morfologici degli stromi dei picnidi.

b) gli elementi colturali presentano, fra le due specie, identità ed uniformità e le variazioni della pigmentazione o delle modificazioni di tonalità del colore del substrato sono incostanti.

c) non vi è particolare differenza riguardo agli ospiti attaccati.

d) il comportamento del micelio a ventaglio nell'ospite è l'unico carattere di maggiore differenziazione.

---

[1]) su ciò vedi anche più avanti a pag. 216

Riteniamo perciò più conforme ai risultati finora noti raggruppare in una unica unità specifica *E. fluens* (Sow.) S. et S. ed *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And.

Deve quindi essere posta in discussione la esatta nomenclatura di questa entità specifica.

E. parasitica é termine usato recentemente, nel 1912. Il termine specifico *fluens* fu usato per la prima volta da Sowerby nel 1814 colla combinazione *Sphaeria fluens* per un campione che é rappresentato, a detta di Shear e coll. dalla sola forma picnidica. Tuttavia non vi sarebbe alcun dubbio — secondo gli AA — che si tratti della forma picnidica di *Sphaeria radicalis*, poiché le masse di picnospore sono talvolta più grandi del solito, e ciò sarebbe tipico per *Sphaeria radicalis* Schw. 1828. Poiché Shear e coll. ritennero di poter concludere sull'indentità fra *Sphaeria radicalis* Schw. 1828, e *Sphaeria fluens* Sow. 1814, e poiché *Sphaeria radicalis* fu riportata ad *Endothia radicalis* da De Notaris nel 1863, gli AA formarono la nuova combinazione *Endothia fluens* (Sow.) S. et S., 1917.

Se tuttavia non é da dubitare che attraverso lo stadio picnidico si possano distinguere *E. gyrosa*, *E. singularis* e forse anche *E. longirostris*, non é possibile distinguere tra loro, attraverso lo stroma, i picnidi o le picnospore, le altre specie, come abbiamo messo in evidenza nella nota precedente, ed in ciò anche Shear e coll. convengono (pag. 27—28). Difatti essi osservano che gli stromi picnidici di *E. fluens*, *E. fluens mississippiensis* ed *E. parasitica* si assomigliano talmente tra loro, che le specie sono praticamente indistinguibili su questa base. *E. tropicalis*, ed *E. longirostris* si possono riaccostare a questo gruppo per quanto riguarda i caratteri picnidici.

La sola forma picnidica non é pertanto sufficiente a distinguere la specie e non ha allora base l'affermazione di identità fatta da questi studiosi fra *Sphaeria fluens* Sow. e *Sphaeria radicalis* Schw. Il campione di Sowerby manca dell'appoggio di caratteri specifici ed il nome *Sphaeria fluens* Sow. deve essere ritenuto, più opportunamente, ai termini dell'Art. 63 delle International Rules of Botanical Nomenclature, nomen dubium.

Il termine *Sphaeria radicalis* Schw. fu descritto da Schweinitz e fu pubblicato da Fries nel 1828. Il solo campione di questa specie trovato nella collezione di Schweinitz all'Accademia di Scienze di Philadelphia — a detta di Shear e coll. — é rappresentato da un pezzetto di corteccia di radice di quercia portante pochi stromi picnidici. Fries non riferisce alcun ospite per questa specie, ma Schweinitz gli attribuisce come ospite il genere *Fagus*. Tuttavia deve esservi una svista, poiché tutti i campioni di Schweinitz mostrano che in realtà l'ospite é *Quercus*, e non solo i campioni conservati all'Accademia di Scienze di Philadelphia, ma anche quelli trovati in molti erbari europei, ed infine lo stesso dell'erbario di Curtis ad Harvard. Lo stesso genere *Quercus* si legge nell'etichetta autografa di Schweinitz sul pacchetto originale del suo erbario.

La descrizione di *Sphaeria radicalis* Schw. 1828 fu per la prima volta pubblicata da Fries nel 1828. Il campione di Schweinitz all'Accademia di Philadelphia mostra solo dei picnidi. La sua descrizione, tuttavia, come

tutte le illustrazioni inedite conservate nella libreria dell'Accademia, mostra chiaramente che i periteci erano presenti nel materiale su cui fu fatta la descrizione, a detta di Shear e coll. Ciò é anche evidente in modo conclusivo dagli specimen autentici di Schweinitz in almeno due collezioni europee, quella di Fries ad Upsala, e di Hooker a Kew. Un esame microscopico di questi campioni mostrerebbe buoni periteci e mature ascospore, aventi i caratteri e le misure date da Shear e coll. per *Endothia fluens* (Sow.) S. et S. Poiché non vi é alcuna indicazione negli scritti di Schweinitz, come pure nelle sue note ed appunti manoscritti, che egli abbia fatta più di una raccolta di questa specie, così non vi sarebbe ragione di dubitare che il materiale di Upsala e di Kew sia una parte di quello su cui Fries basò la descrizione di *Sphaeria radicalis* Schw. Il vero campione tipo di questa specie sarebbe quello nell'erbario di Fries, sul quale egli basò la sua descrizione, che fu aggiunta alla diagnosi mandata da Schweinitz.

La *Sphaeria radicalis* Schw. 1828 fu riportata ad *Endothia* da De Notaris (in Cesati et De Notaris, 1863) e non da Cesati e De Notaris, come riferiscono Shear e coll., con la seguente combinazione: *Endothia radicalis* (Schw.) De Not., 1863 (cfr. anche Saccardo, Sylloge, XXIV, 761). La grafia *E. radicalis* (Schw.) Fr. che Anderson e Anderson (1912) e Pantanelli (1912) riportano nei loro lavori, non é corretta, poiché Fries (1849) fece solo il nome del genere e non quello della specie. La grafia *E. radicalis* (Schw.) Wint.. 1887 é posteriore alla grafia Denotarisiana, come pure *E. radicalis* (Schw.) Farl. 1912, ed *E. radicalis* (Schw.) Shear, 1912. Non vogliamo tuttavia qui discutere le eventuali sinonimie delle specie studiate, e di altre eventuali specie che venissero prese in considerazione nel corso degli studi. Ciò sarà oggetto di discussione nei successivi contributi.

A conclusione di questo esame, dobbiamo invece convenire per l'uso della terminologia *Endothia radicalis* (Schw.) De Not., 1863 a favore della nostra specie, che raggruppa come é stato detto:

E. radicalis (Schw.) De Not., 1863
= *E. fluens* (Sow.) S. et S.
= *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And.

In base alle risultanze possiamo suddividere tuttavia l'*E. radicalis* (Schw.) De Not. in due sottospecie, *E. radicalis aflabellata* (lett. che non ha ventagli), comprendente, secondo i risultati dell'analisi statistica della nota precedente, parte dei campioni studiati da Shear e coll. e compresi sotto *E. fluens* (Sow.) S. et S. e la sua forma *mississippiensis*, e la sottospecie *E. radicalis parasitica* comprendente i campioni sotto il nome di *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. ed alcuni dei campioni compresi sotto il nome *E. fluens* (Sow.) S. et S. ed *E. fluens mississippiensis* S. et S., tenendo conto in ciò anche dei risultati dell'analisi statistica (vedi nota precedente, pag. 204, Tav. 1).

Già Saccardo aveva intravista la possibilità che *E. parasitica* potesse essere compresa in *E. radicalis*. Riferisce infatti Pantanelli (1912), in una nota al suo lavoro, che il Prof. P. A. Saccardo gli ha comunicato ritenere la *Diaporthe parasitica* Murr. (= *Endothia parasitica* [Murr.] P. J.

et H. W. And.) una razza di *Endothia radicalis* modificata dal parassitismo (cfr. anche Sylloge, XXII, 966, nota) ed aggiunge: „Si potrà dunque discutere se si tratti di una specie o di varietà distinte: ma ciò dal punto di vista patologico é indifferente."

Proseguendo nell'indagine e seguendo in parte i criteri già usati da Shear e coll., e volendo applicare sia i risultati della nostra indagine statistica (vedi nota precedente) sia le osservazioni più sopra riportate, il genere *Endothia* viene ad essere suddiviso come può apparire dal prospetto della Tabella II.

Le sezioni di Shear e coll. vengono elevate al rango di sottogenere e vengono perciò distinti:

1) — il sottogenere *Euendothia*, corrispondente alla Sezione 2 di Shear e coll., che raggruppa *E. longirostris* ed *E. tropicalis*, già esaminate nei caratteri morfologici ed attraverso l' analisi statistica della nota precedente, ed *E. radicalis* (Schw.) De Not., 1863.

2) — il sottogenere *Proendothia* corrispondente alla Sezione 1 di Shear e coll., comprendente *E. gyrosa* ed *E. singularis*.

Tabella II

genus Endothia Fries, 1849

a) Subgenus *Euendothia* nobis, 1950: ascospore oblungohe-fusiformi fino ad oblungo-ellittiche, unisettate a maturità.

Endothia radicalis (Schw.) De Not., 1863: ascospore sub-ellittiche od oblungo-fusoidee ottuse, grandi. $6-11 \times 3{,}5-5\ \mu$, media $7{,}5 \times 4{,}3\ \mu$.

subsp. *aflabellata* nobis, 1950:(= *E. fluens* [Sow.] S. et S. p. p.). Micelio non formante ventagli sotto la corteccia dell'ospite. In genere debole parassita.

forma *mississippiensis* (S. et S.) nobis, 1950: in coltura micelio colore giallo cadmio fino ad aranciato.

subsp. *parasitica* (Murr.) nobis, 1950: micelio formante ventagli sotto la corteccia dell'ospite. Patogena.

Endothia longirostris Earle, 1900: collo dei periteci molto lungo, fino a 1 cm, con ostiolo acuto. Picnospore piccole, $2-4 \times 1-1{,}5\ \mu$.

Endothia tropicalis S. et S., 1917: ascospore sub-ellittiche, ottuse, grandi, $7{,}5-10{,}5 \times 3{,}5$ sino $5\ \mu$, media $8{,}9-9{,}1 \times 4{,}2\ \mu$.

b) Subgenus *Proendothia* nobis, 1950: ascospore cilindriche o allantoidi, continue o plurisettate.

Endothia gyrosa (Schw.), Fr. 1849: stroma erompente, irregolarmente sub-globoso, con superficie piuttosto scabra, color arancio cromo dapprima, poi castano fino a nerastro, $1{,}5-2 \times 1{,}5-3$ mm.

Endothia singularis (H. et P. Sydow.) S. et S.; 1917: stroma regolare, erompente, subgloboso, rosso mogano all'esterno e scarlatto all'interno, molto polverulento quando é vecchio, $2-4 \times 3-5$ mm.

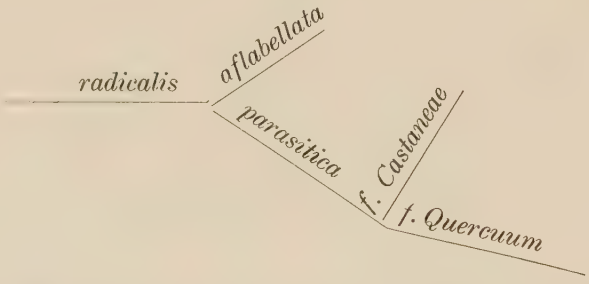
Esaminiamo ora la patogenicità di *E. radicalis* subsp. *parasitica* nei riguardi del gen. *Castanea* e del gen. *Quercus*. Il comportamento patogenico verso le due specie dovrebbe essere esaminato attentamente con inoculazioni incrociate. Il risultato ottenuto da Biraghi (1950) con inoculazioni con colture del patogeno isolato da *Quercus* in confronto con altre isolate da *Castanea* fu positivo e „sincrono in tutti i casi, fatta eccezione per il ceppo isolato dalla quercia; per questo vi fu un ritardo di almeno due mesi, malgrado che la tecnica e tutte le altre condizioni fossero le medesime in tutti i casi ed inoltre vi é da aggiungere che questo ceppo doveva, se mai, essere

più virulento degli altri perché il suo isolamento dall'ospite originario era più recente di quello degli altri ceppi".

Per adattemento parassitario (sia per ibridazione che per mutazione)[1]) si starebbe compiendo dunque nella sottospecie *E. radicalis* subsp. *parasitica* una differenziazione ulteriore in due forme specializzate: una su *Castanea* ed una su *Quercus*. Quanto mai opportuno appare in proposito uno studio citogenetico della forma ascofora di *E. radicalis*, anche in relazione alla possibilità di ottenere periteci in coltura (Orsenigo 1950).

Queste considerazioni dovrebbero a nostro avviso valere anche per giustificare le origini delle sottospecie *aflabellata* e *parasitica*.

In sostanza siamo dell'opinione che si sia verificata una successiva specializzazione di razze provenienti tutte dalla specie *E. radicalis*, con un andamento dicotomico come esposto qui appresso:



E. radicalis esisteva in Italia certamente fin dal 1862, come documentano i campioni degli erbari italiani, di cui diamo un elenco nella tabella III, e che furono in parte esaminati da Shear e coll. e riferibili tutti ad *E. radicalis*.

La subsp. *parasitica* si sarebbe staccata da *E. radicalis* almeno fin dal 1917 in Italia, come documentano i campioni raccolti da Shear e coll. che abbiamo avuto modo di esaminare nella prima nota (vedi campioni n. 1656, raccolto a Stresa, e n. 1637 raccolto a Como).

Con ciò la presenza di *E. radicalis* subsp. *parasitica* nobis é anteriore rispetto alle date ufficiali registrate in seguito alla osservazione dei focolai più gravi della malattia, in Italia come in Europa. Ma é ovvio che la segnalazione di focolai risulta, nella pratica fitopatologica, posteriore, e spesso di un buon numero di anni, all'origine dei focolai stessi.

L'origine asiatica della subsp. *parasitica* resta pregiudicata se si ammette la insorgenza mutazionale o la formazione per ibridazione. A nostro avviso non il trasporto, ma la occasione di infettare ospiti e la formazione del focolaio epidemico, hanno richiesto un cospicuo numero di anni.

---

[1]) Per dare una idea della enorme riproduzione sessuata del fungo si ricordi che in questa specie vengono emesse da un singolo peritecio 14.000 ascospore all'ora (Wolf e Wolf, 1947), cioé, in media, da 6.000.000 a 25.000.000 di ascospore per ora per centimetro quadrato di stroma ascoforo.

Tabella III

Erbar. Crittogam. Ital.

986. *Endothia radicalis*

Fries Summ. 385 — *Sphaeria radicalis* Schwein. — Fries Eclog. in Linn. V. 541. El, II. 73. Rabenh. Herb. mycol. II. n. 254. — Cesat. et DNtrs. Sferiac. in Comm. crittog. n. 4. lapsu calami sub Valsa.

Ai ceppi dei castagni presso Locarno, al Lago Maggiore. 1862. Daldini.

Saccardo, *Mycotheca veneta*

670. *Endothia gyrosa* (Schw.) Fckl.

Sacc. Mycol. Ven. 146. t. XIV. f. 63—65 (Status spermogonicus). Selva (Treviso), in cortice Carpini Betuli, Sept. 1875.

Saccardo, *Mycotheca veneta*

929. *Endothia gyrosa* (Schw.) Fckl.

Sacc. Mycol. Ven. 146 t. XIV, f. 63—65.

f. Castaneae vescae (Spermogonium)

Selva (Treviso), in ejusdem cortice, Sept. 1876.

G. B. Traverso, *Collectio mycologica* (inedito)

175. *Endothia gyrosa* (Schw.) Fuck.

in ramis Castaneae? Bosco Consiglio (Treviso) augusti 1876. Leg. Ded. Det. P. A. Saccardo.

Sono due bustine. Sulla prima é scritto: *Endothiae gyrosae* st. pycnid. (teste Saccardo). In ligno quercino — Bosco Montello (Treviso) 1875. leg. det. et. ded. P. A. Saccardo. Vi é inoltre un disegno di picnospore e conidiofori colle relative misure: bas. 15—20 = 2, $^1/_2$ Spor. $\frac{3—4}{1—1,\,^1/_2}$. Sulla seconda é scritto solamente: ascophora.

(come si vede ben tre campioni sono su *Castanea*, tanto che Saccardo ne aveva già fatta una forma specifica per *Castanea*)

Conferma in questo punto di vista l'apparizione di focolai sparsi, sia spazialmente sia temporalmente, in Europa, nel periodo che va dal 1924 al 1938, ed in Italia dal 1937 al 1950.

In Europa le segnalazioni si hanno a Bruges (Belgio) nel 1924, a Wiesbaden (Germania) nel 1927, ad Alcade (Portogallo) nel 1929, Caucaso (Russia) nel 1936, ad Avellino[1]) (Italia), nel 1937, in Spagna (vedi Biraghi 1948) verso il 1947.

In Italia, Avellino[1]) nel 1937, Busalla (Genova), nel 1938, Udine nel 1940, Pistoia nel 1947, Varese, Bergamo, Como, Brescia, nel 1949—50, tutti a carattere già avanzato e risultati, agli esami, più vecchi dell'età di segnalazione.

Tutti i focolai, dai quali quelli italiani hanno assunto caratteri gravemente epidemici data l'intensità delle colture, sono dispersi su tutta l'Europa, così che é quanto mai ingiustificato pensare ad un trasporto, una tantum, antropico per questo continente. Ci sembra più leggittimo ammettere che il fungo fosse da tempo esistente in Europa e diffuso con i vettori conosciuti (vento ed uccelli) e che le esplosioni locali siano da intendere come il risultato di una differenziazione (mutazionale o per ibridazione).

[1]) Il dr. De Rosa ha reso noto recentemente in Giornale di Agricoltura, (Anno LX, n. 52. Dicembre 1950) che il focolaio di Avellino risale almeno al 1937 e con ciò é anteriore a quello di Busalla fino ad oggi ritenuto il primo. Lo spostamento di data giustifica le nostre affermazioni circa il ritardo inevitabile della segnalazione dei focolai rispetto alla loro insorgenza. Non solo, ma conferma anche quanto si asserisce, pure sopra, circa l'apparizione plurima di focolai sparsi variamente.

Se l'origine della subsp. *parasitica* procede secondo lo schema da noi fatto, occorrerà molta prudenza prima di considerare come definitiva la resistenza della *Castanea mollissima* e degli altri ibridi, giàcché al momento della propagazione di questi si potrebbe dar luogo a nuove forma patogene da parte dai parassiti. Tanto più che già Shear e coll. avevano segnalata la *C. mollissima* come suscettibile di infezione.

I problemi sollevati da questo nuovo punto di vista, quali ad esempio le sinonimie, la distribuzione geografica, i rapporti con le altre specie già note di *Endothia*, le condizioni ecologiche e la formazione di un inoculo sufficiente agli effetti epidemici, ed altri ai quali abbiamo già accennato, dodovranno essere attentamente riesaminati.

Riassunto

L'A. mette in evidenza che mancano elementi determinanti per la differenziazione specifica fra *E. fluens* (Sow.) S. et S. ed *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. Non vi sono infatti elementi morfologici delle ascospore, qualitativi e quantitativi (misure) che servano alla differenzazione, né elementi morfologici degli stromi dei picnidi. Inoltre gli elementi colturali presentano tra le due specie identità ed uniformità, e le variazioni della pigmentazione e delle modificazione di tonalità di colore del substrato sono incostanti, come pure non vi é particolare differenza riguardo agli ospiti attaccati. L'unico carattere di maggiore differenzazione é il comportamento del micelio a ventaglio nell'ospite. Mancando dunque differenze ben determinate, le due specie vengono riunite in una unica entità specifica che prende il nome di *E. radicalis* (Schw.) De Not. 1863. *E. fluens* (Sow.) S. et S. é da ritenersi *nomen dubium*.

Vengono formati due sottogeneri: 1) *Euendothia*, che raggruppa *E. longirostris*, *E. tropicalis* ed *E. radicalis* (Schw.) De Not., 1863, e 2) *Proendothia*, comprendente *E. gyrosa* ed *E. singularis*. In *E. radicalis* vengono distinte due sottospecie: 1) subsp. *aflabellata* e 2) la subsp. *parasitica*. Queste due sottospecie potrebbero aver avuto origine entrambe da *E. radicalis* per mutazione o per ibridazione, verosimilmente nello stesso modo col quale si sta verificando ora la formazione di due razze fisiologiche di *E. radicalis* subsp. *parasitica*, una su *Castanea*, ed una su *Quercus*.

Summary

The writer makes evident that determining characters for a specific differentiation between *E. fluens* (Sow.) S. et S. and *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. fail. There is no morphological character of ascospores, either qualitative (sizes) one, that may be used for a differentiation and there is no morphological character of pycnidial stromata. Moreover, cultural characters are equal and uniform in the two species, and differences of pigments in the medium and modifications of tonality of its colour are not constant, and yet there is no distinct difference about their hosts. The only character of greater differentiation is the fan-like mycelium on the host. Because strong differences fail, the two species are joined in only one specific entity, whose name is

E. radicalis (Schw.) De Not., 1863. *E. fluens* (Sow.) S. et S. must be considered *nomen dubium*.

These following two subgenera are formed: 1) the *Euendothia*, which ties up together *E. longirostris*, *E. tropicalis* and *E. radicalis* (Schw.) De Not., 1863, and 2) the *Proendothia* containing *E. gyrosa* and *E. singularis*. *E. radicalis* is divided into two subspecies: 1) subsp. *aflabellata*, and 2) subsp. *parasitica*. Both these two subspecies might have arisen from *E. radicalis* by mutation or hybrydation, as to day we can observe the rise of two physiological strains of *E. radicalis* subsp. *parasitica*, one on *Castanea*, and the other on *Quercus*.

Zusammenfassung

Der Verfasser berichtet über den Mangel an entscheidenden Elementen für die spezifische Differenzierung zwischen *E. fluens* und *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. And. In der Tat gibt es weder quantitative und qualitative morphologische Elemente in den Ascosporen, die für die Differenzierung nützlich sind, noch morphologische Elemente der Pycnidienstromata. Ferner zeigen die Kulturen der zwei Sorten Einheitlichkeit und Übereinstimmung, und die Verschiedenheit der Farben und der Farbveränderungen des Substrates sind nicht beständig. Bei den befallenen Wirten ist ebenfalls keine besondere Verschiedenheit zu bemerken. Das einzige und vornehmste Differenzierungsmittel ist die Ausbildung des fächerartigen Mycels in der Wirtspflanze. Da also entscheidende Unterschiede fehlen, werden die zwei Sorten in einer einzigen Art vereinigt und *E. radicalis* (Schw.) De Not. 1863 genannt. *E. fluens* (Sow.) S. et S. soll daher n o m e n d u b i u m sein.

Es werden zwei Untergattungen gebildet: 1) *Euendothia*, welche *E. longirostris*, *E. tropicalis* und *E. radicalis* (Schw.) De Not., 1863 vereinigt; 2) *Proendothia*, welchen *E. gyrosa* und *E. singularis* umfaßt. Bei *Endothia radicalis* unterscheidet man zwei Unterarten: a) die subsp. *aflabellata* und b) die subsp. *parasitica*. Diese zwei Unterarten können beide von *E. radicalis* abstammen durch Mutation und Bastardierung, wahrscheinlich in gleicher Weise, wie jetzt die Bildung zweier physiologischer Arten von *E. radicalis* subsp. *parasitica* eine auf *Castanea* und die andere auf *Quercus* vor sich zu gehen scheint.

Letteratura citata

A n d e r s o n, P. J., 1914. Morphology and life history of the Chestnut-blight fungus. Comm. Invest. & Cont. Chestnut Tree Blight Disease, in Penn. Bull. **7**, 44 pp.

A n d e r s o n, P. J. e A n d e r s o n, H. W., 1912. The Chestnut blight fungus and a related saprophyte. Phytopathology II, **5** 204—210. — 1912. *Endothia virginiana*. Phytopathology II, **6**, 261—262.

A n d e r s o n, P. J. e R a n k i n, W. H., 1914. *Endothia* canker of Chestnut. N. Y. Cornell Agr. Exp. Sta. Bull. 347, 531—618.

B a l d a s s i n i, C., 1948. Di una alterazione di polloni di castagno dovuta ad una species di *Endothia*. Ann. Sper. Agr., N. S., II, **5**, 577—686.

B i r a g h i, A., 1948. Prove di inoculazione di castagni con *Endothia sp.* isolata in Biscaglia. Ann. Sper. Agr., N. S., II, **5** 687—691. — 1950 Nuovi ospiti di *Endothia parasitica*. Ann. Sper. Agr., N. S., IV, **1**, 109—118.

C e s a t i, V. e D e N o t a r i s, C., 1863. Schema di classificazione degli sferiacei italici aschigeri... Comm. Soc. Crittog. Ital., I, 297.

Clapper, R. B., Gravatt, G. F., e Stout, D. C., 1946. *Endothia* canker on post oak. Plant Dis. Rept., XXX, **10**, 381.

Fries, E. M., 1828. Elenchus fungorum ....., II, Gryphiswaldiae. — 1849. Summa Vegetabilium Scandinaviae ....., Sect. 2., Upsaliae.

Orsenigo, M., 1950. Sulla formazione in coltura di periteci di *Endothia parasitica*. Rend. Ist. Lomb. Sci. e Lett., LXXXII, **1**, 236—238.

Pantanelli, E., 1912. Su la supposta origine europea del cancro americano del castagno. Atti R. Acad. Lincei, XXI, **12**, 869—875.

Rankin, W. H, 1914. Field studies on the *Endothia* canker of Chestnut in New York State. Phytopathology IV, **4**, 233—260.

Rui, D., 1950. L'*Endothia parasitica* sul castagno e sulle quercie. L'Informatore Agrario VI, **22**. 3; VI, **23**. 3.

Shear, C. L., Stevens Neil, E., Tiller Ruby, J., 1917. *Endothia parasitica* and related species. U. S. Dept. Agr. Bull. 380, 88 pp.

Traverso, G. B., 1906. Pyrenomycetae ..... Società Bot. It., Fl. Ital. Critt., pars 1, v. 2, fasc. 1; 180—182.

Wolf, F. e Wolf, F., 1947. The fungi. John Wiley & Sons, London, II pag. 189.

Untersuchungen über die Förderung der Jugendentwicklung der Hauptgetreidearten durch bodenbewohnende Pilze

Von

A. Gerhard Winter, Universität Bonn

Mit 2 Abbildungen

A. Allgemeines

Durch die Arbeiten von Hulpoi (1936), Starkey (1937) und Stille (1938) wurde die bereits in früheren Jahrzehnten ausgesprochene Vermutung bestätigt, daß die Rhizosphäre, die wurzelnahe Zone, durch einen ungewöhnlichen Reichtum an Bakterien, Strahlenpilzen, Fadenpilzen, Algen und Protozoen ausgezeichnet ist. Mit Hilfe der bereits früher von Rippel (1936) für diese Zwecke empfohlenen Cholodny-Methode konnte die sehr starke Mikrobenanreicherung um die Wurzelhaare unmittelbar vor Augen geführt werden. Die quantitative Bedeutung dieser Rhizosphärenflora für die stofflichen Umsetzungen im Boden und die für die Mikrobenentwicklung vom übrigen Boden abweichenden Bedingungen der wurzelnahen Zone erhellen aus der von Stille (1938) gemachten Beobachtung, daß von der im unsterilen Boden ausgeschiedenen Kohlensäure nur 65% auf die Atmung der Pflanzenwurzeln und 35% auf die Tätigkeit der Rhizosphärenflora zurückzuführen sind, die in dem verwendeten nährstofffreien Sand ausschließlich auf die Veratmung der Wurzelausscheidungen angewiesen waren. Durch die Arbeiten von Timonin (1940) ist es weiter wahrscheinlich geworden, daß die Rhizosphärenflora je nach Art der besiedelten Pflanzen eine gewisse Spezifität aufweist, die auch durch sehr unterschiedliche Düngung der Pflanzen nicht verwischt werden soll. Damit steht allerdings im Widerspruch, daß nach den Erfahrungen von Eaton und Rigler (1946) durch verschiedene Ernährung oder Verstümmelung von Baumwollpflanzen gleich starke Schwankungen in der Zusammensetzung der Rhizosphärenflora ausgelöst werden können, wie sie Timonin (1940) zwischen verschiedenen Flachs- und Tabaksorten beobachtete und als artspezifisch ansprach. Schließlich hat Winter (1950) nachgewiesen, daß *Ophiobolus graminis* in der Rhizosphäre durch Zugabe organischer Nährstoffe wie Glukose, Biomalz oder Pepton in völlig anderer Weise beeinflußt wird wie im freien Boden. Ja, es zeigte sich bei der Durchführung derartiger Untersuchungen in Sand, daß der wurzelnahe Bereich augenscheinlich gegen alle Einwirkungen aus dem Boden in erstaunlichem Ausmaß abgeschirmt ist.

Man darf erwarten, daß eine solche starke und vielleicht sogar artspezifische Mikrobentätigkeit im Bereiche der Wurzelhaare nicht ohne Einfluß auf die

Entwicklung der Pflanzen bleibt. Es kann daher nicht überraschen, wenn Isakowa (1936) und Isakowa und Smirnowa (1936) beobachtet haben, daß die Mikroorganismen der Rhizosphäre einen spezifischen, nicht selten förderlichen Einfluß auf die Entwicklung der höheren Pflanzen (Senf, Tabak, Baumwolle) ausüben. Und zwar sollen nicht nur die eigenen Rhizosphärenorganismen sondern auch Bodenaufschwemmungen aus der wurzelnahen Zone anderer Pflanzen die Geschwindigkeit der Samenkeimung deutlich beeinflussen. Stille (1938) konnte nun aber zeigen, daß diese Wirkung der mikrobenhaltigen Rhizosphärenaufschwemmungen unter Umständen auf Verschiedenheiten im Säuregrad der verwendeten Rhizosphärenaufschwemmungen zurückzuführen ist. Ob allerdings der von den russischen Forschern beobachtete Effekt auf solchen nicht kontrollierten Effekten beruht, oder ob hier tatsächlich eine Wirkung der Mikroorganismen vorlag, konnte auf diesem Wege nicht endgültig entschieden werden.

Eine andere recht bemerkenswerte Wirkung der Rhizosphärenflora konnten Winter und von Rümker (1949, 1950) nachweisen. Nach ihren Untersuchungen ist in mehreren Fällen die Resistenz verschiedener Pflanzen gegen einige Pilze durch die antibiotische Wirkung der Rhizosphärenflora bedingt. Es wird hier also über die Widerstandsfähigkeit einer Pflanze gegenüber einem Parasiten, oder besser einem möglichen Parasiten, nicht in den Wurzelzellen sondern bereits in der Rhizosphäre entschieden. Es scheint sich dabei um eine Verdrängung der weniger gut an die betreffenden Bedingungen in der Wurzelumgebung angepaßten Parasiten durch die optimalere Lebensbedingungen findenden Rhizosphärenbewohner zu handeln. So können Mais und Weizen, die in natürlichem Boden gegen die Erbsenparasiten *Ascochyta pinodella* und eine biologische Rasse des *Fusarium culmorum* resistent sind, unter sterilen Bedingungen, also in Abwesenheit einer Rhizosphärenflora durch diese Pilze infiziert werden. Gleiches gilt nach diesen Autoren für die Infektion verschiedener dikotyler Pflanzen durch *Ophiobolus graminis*. Bei den erstgenannten Parasiten führt ein Zusammentreffen mit Wurzeln von Weizen oder Mais unter sterilen Bedingungen entweder zu einer völligen Zerstörung des Wurzelsystems, so bei Beimpfung von Mais und Weizen mit *Fusarium culmorum* oder aber zu der Bildung einer Pseudomykorrhiza mit schwach parasitischen Zügen wie bei der Berührung von Weizen und *Ascochyta pinodella*, bzw. zu einer leichten Verpilzung der Wurzelrindenschichten, wie sie bei dem Zusammentreffen der Maiswurzeln mit *Ascochyta pinodella* zu erkennen ist. Winter und von Rümker beobachteten aber weiter, daß der Mais, den das *Fusarium culmorum* in steriler Kultur rasch abtötete, in natürlichem Ackerboden durch den gleichen Pilz stark gefördert wurde. Und zwar wurde beobachtet, daß diese Förderung der Jugendentwicklung durch eine starke Verminderung von Keimlingskrankheiten zustande kam. Diese Vermutung fand in den Versuchen von Slykhuis (1947), die den genannten Forschern erst bei Abschluß ihrer Arbeiten zugänglich wurden, eine gewisse Bestätigung. Pilze, wie *Acremonium, Phialophora* und *Gliocladium fimbriatum*, die die saprophytische Entwicklung von *Fusarium culmorum* im Boden auch bei kräftigster Beimpfung nicht zu beeinflussen vermögen, können nach seinen Beobachtungen dagegen die Entwicklung dieser

Parasiten in der Umgebung von keimenden Samen völlig unterdrücken. Um den Samen entwickeln sich nämlich die genannten Pilze infolge der Stoffausscheidungen aus dem Samen so stark, daß sie das *Fusarium culmorum* aus der Umgebung des Samens verdrängen. Slykhuis spricht daher von einer Spermatosphäre, die sich genau wie die Rhizosphäre weitgehend vom freien Boden unterscheidet. Den erstmaligen Nachweis einer solchen Spermatosphäre erbrachten aber Gassner und Franke (1935) mit der Feststellung, daß keimende Samen organische Substanzen, und zwar insbesondere lösliche N-Verbindungen in das Keimbett ausscheiden. Die Entwicklung einer reichen Mikroflora ist also die notwendige Folge einer solchen Stoffausscheidung. In den Arbeiten von Winter und von Rümker wurde gleichfalls eine starke Agarverflüssigung durch die Samenausscheidungen und eine deutlich verstärkte Entwicklung der Pilze in der Samenumgebung beobachtet. Nach diesen Erfahrungen lag es also nahe, den Beobachtungen von Isakowa und Smirnowa doch ein größeres Gewicht beizulegen, als es nach den kritischen Untersuchungen Stille's möglich war. Es scheint danach durchaus denkbar, daß sich bei Beimpfung von Samen mit Mikroben aus der Rhizosphäre oder anderen Ursprungs im Laufe der Keimung durch die Stoffausscheidungen eine kräftige Mikroflora entwickelt, die das Wachstum der keimenden Pflanzen auf eine zunächst unbekannte Art beeinflußt und von der Spermatosphäre aus in die Rhizosphäre einwandert. Es ist aber von vornherein wahrscheinlich, daß derartige Effekte infolge der unübersichtlichen, komplexen Bedingungen im natürlichen Boden mit einer gewissen Unsicherheit behaftet sind, eine Vermutung, die von Rümker in weiteren, noch unveröffentlichten Untersuchungen bestätigen konnte. Weiterhin bleibt zunächst offen, ob diese evtl. Wirkung auf das Wachstum der höheren Pflanzen in einer nach den Untersuchungen von Winter und von Rümker zu vermutenden Verhinderung keimlingsschädigender Infektionen oder aber in einer Steigerung des Sämlingswachstums durch Ausscheidung irgendwelcher stimulierender Substanzen beruht. Diese Untersuchungen schienen um so dringlicher, als nach den Beobachtungen von Schwarz-Kraepelin (1947) bei einer Reihenuntersuchung von 300 Weizenkörnern festgestellt wurde, daß sich auf der Innenseite der Fruchtschale des Weizens stets eine deutliche Hyphenentwicklung zeigt. Gleiches gilt nach dieser Autorin für Roggen, Spelz, Hafer, Gerste und Erbsen. Bei Kopfsalat wurde kräftige Entwicklung einer Pykniden bildenden Pilzart längs der Rippen beobachtet, während amerikanische Salatsaaten teils pyknidenbildende Formen teils *Alternaria*-Hyphen erkennen ließen. Ähnliche Ergebnisse erhielt Schwarz-Kraepelin bei der Untersuchung von Rainkohl, *Beta*-Arten und Feldsalatsamen. Es scheint also eine solche Verpilzung der Samen weit verbreitet. Man darf annehmen, daß diese Pilze bei der Keimung nicht selten günstige Entwicklungsbedingungen finden und dann einen evtl. nicht unerheblichen günstigen, oder wohl häufiger — als auf diesem Wege übertragene Parasiten — ungünstigen Einfluß auf die Entwicklung des Keimlings ausüben. Es muß hier insbesondere noch auf die Untersuchungen von Mannozi Torini (1932) hingewiesen werden, der eine größere Anzahl von Pilzen aus dem Boden isolierte und eine deutliche Wirkung ihrer Stoffwechselprodukte auf die Entwicklung des

Weizens feststellte. 62,5% der Pilze schieden schädliche Stoffe aus, 25% wirkten hemmend auf das Wurzelwachstum aber nicht auf die Entwicklung der oberirdischen Organe und 12,5% (*Cunnighamella*, *Pirella* sp. und *Fusarium* VI) förderten die Entwicklung des Weizens. Es schien daher in der Tat an der Zeit, die Einwirkung verschiedener Pilze auf den Keimungsverlauf und die Jugendentwicklung einiger Kulturpflanzen zu studieren.

B. Experimentelles

Es wurden hierzu eine Reihe von Bodenpilzen verwandt, die aus Kompost und einer lehmig-sandigen Gartenerde isoliert wurden. Es seien hier von den zahlreichen untersuchten Pilzstämmen nur die in diesem Zusammenhang besonders interessanten aus Kompost isolierten Stämme K 5 (*Chaetomium* sp.) und K 6 (*Penicillium* sp.) sowie die Isolierungen aus Gartenerde L 5 (*Chaetomium* sp. anscheinend identisch mit K 5), L 6 (*Fusarium* sp.) und L 8 (*Verticillium glaucum*) genannt. Alle anderen nur beiläufig oder vergleichsweise genannten Stämme werden hier nur mit ihrer Herkunftsbezeichnung zitiert. Diese Pilze wurden auf Biomalzagar (2%) gezüchtet, bis nach 8—14 Tagen der Agar von den Myzelien völlig durchwuchert war und die Nährstoffreserven weitgehend erschöpft waren. Dann wurden aus diesen Kolonien Agarstückchen von 5 mm mit einem sterilen Korkbohrer herausgestanzt und diese in ein Komposterde-sandgemisch (2 : 1) unter die Samen gelegt (Kontrollen mit Biomalzagar-scheibchen). So war namentlich nach den Untersuchungen von Slykhuis zu hoffen, daß, wenn überhaupt, dann unter diesen Bedingungen in der Nähe der Samen für die Pilze die Möglichkeit für eine stärkere Entwicklung gegeben war. Es traten bei einer solchen Impfung von Weizen, Roggen, Gerste und Hafer Hemmungs- und Stimulationseffekte von beträchtlicher Deutlichkeit auf. Die Hemmungen interessieren hier weniger, da es sich zum Teil um Infektionen handeln kann und offensichtlich auch gehandelt hat. Wichtiger sind in diesem Zusammenhang vom praktischen und theoretischen Standpunkt aus die Stimulationen. Diese treten während der Keimung nur ganz schwach ja zumeist überhaupt nicht hervor, nehmen aber dann im Laufe der nächsten

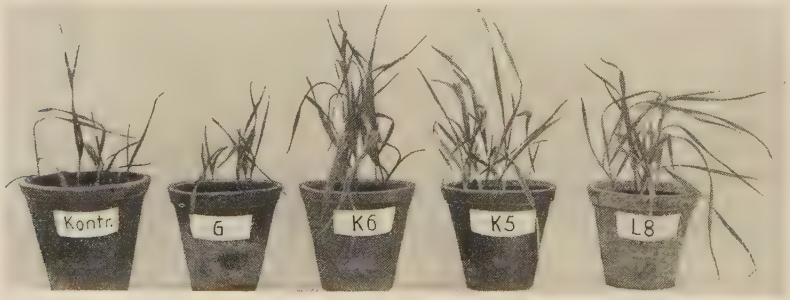


Abb. 1
Die Entwicklung von Weizen ist vier Wochen nach Versuchsbeginn durch Impfung mit dem Stamm K 6 (*Penicillium* sp.), K 5 (*Chaetomium* sp.) und L 8 (*Verticillium* sp.) gegenüber der Kontrolle und den mit dem Stamm G geimpften Exemplaren deutlich gefördert. Ebenso günstig wirkte der Stamm L 5 (*Chaetomium* sp.)

Wochen dauernd an Deutlichkeit zu (siehe Abb. 1 und 2). Die Pflanzen sind nach 4 Wochen zum Teil viel kräftiger als die unbehandelten Kontrollen, sie sind erheblich höher und viel reichlicher bestockt. Als besonders interessant darf vermerkt werden, daß drei Pilze, L5, K5 und K6, bei allen 4 Getreidearten eine gleichsinnige Wirkung erkennen ließen. Das macht zunächst sehr wahrscheinlich, daß die schon an sich als signifikant zu betrachtenden Unterschiede keinesfalls zufällige Schwankungen darstellen. Weiter deutet

Abb. 2
Die Entwicklung von Roggen ist vier Wochen nach Versuchsbeginn durch Impfung mit den Stämmen K6 (*Penicillium* sp.), K5 (*Chaetomium* sp.) und L2 (steriles Myzel) gegenüber der Kontrolle und den mit dem Stamm K2 geimpften Pflanzen deutlich gefördert

es auf eine einheitliche stoffliche Beeinflussung der Pflanzen. Handelte es sich nämlich um eine nach den Untersuchungen von Winter und von Rümker vielleicht zu vermutende Verhinderung von Keimlingskrankheiten, für die auch keinerlei Anzeichen erbracht werden konnten, so wäre bei der Anfälligkeit der genannten Pflanzen gegen verschiedene Parasiten niemals eine so einheitliche Wirkung zu erwarten. Es bleibt aber zu entscheiden, ob es sich hier um eine Wirkung bereits auf dem Biomalz gebildeter Stoffe handelt, oder ob hier eine Neubildung von stimulierenden Stoffen durch Entwicklung des Pilzes in der Umgebung der Samen und der Wurzeln erfolgt. Nun wird die Keimungsgeschwindigkeit durch die Pilze nicht merklich beeinflußt. Unterschiede in der Entwicklung der verschiedenartig oder gar nicht beimpften Pflanzen sind also zur Zeit der Keimung minimal oder fehlen ganz und treten erst im Laufe einer mehrwöchigen Entwicklung in ständig zunehmendem Ausmaß hervor. Die günstige Wirkung der Impfung setzt also erst längere Zeit nach der Keimung voll ein, hält dann weiterhin ständig an, ja steigert sich deutlich, so daß die Differenz in der Entwicklung zwischen Kontrolle und beimpften Kulturen ganz allgemein mit zunehmendem Alter unverhältnismäßig viel stärker hervortritt. Bei Hafer wirkte sich der Stamm L5 sogar erst nach etwa 6 Wochen günstig aus, um dann allerdings eine ganz erstaunliche Entwicklungssteigerung auszulösen, die eine Erhöhung des Wachstums gegenüber den Kontrollen um 100—200% erbrachte. Es ist nach diesen Beobachtungen also wahrscheinlich, daß diese Wirkung nicht den in den Agarplättchen bereits vorhandenen Stoffen zuzuschreiben ist. Es scheint vielmehr eine Entwicklung des eingeimpften Pilzes einzusetzen, die in steigendem

Maße zu einer Förderung des Pflanzenwachstums führt. Ob nun diese Entwicklung sich auf die Samenschale beschränkt, ob und wieweit sie auf die Rhizosphäre übergreift, bedarf weiterer Klärung.

Es muß bei der vom Verfasser immer wieder beobachteten Abhängigkeit der Entwicklung bodenbewohnender Pilze von der Gegenwart anderer Organismen (Winter 1942, 1949, 1950) damit gerechnet werden, daß dieser Effekt unter Umständen nicht in allen Bodenarten gleichmäßig auftritt. Auch könnte die Wirkung auf demselben Boden durch die Interferenz anderer Umweltfaktoren, die ihrerseits das Mikrobenleben insgesamt beeinflussen, Schwankungen unterliegen. Diese Möglichkeit sowie die eigentlichen Ursachen der beobachteten Stimulation bedürfen daher noch einer eingehenden Untersuchung.

Es erscheint nicht ausgeschlossen, diese entwicklungsfördernde Wirkung in der Praxis auszuwerten. Wenn in der Landwirtschaft auch eine Impfung des Bodens mit bestimmten Organismen in der Regel zur Erfolglosigkeit verurteilt ist, weil es an sich nicht an den betreffenden Keimen im Boden sondern an den Entwicklungsmöglichkeiten für sie fehlt, so darf man doch hoffen, daß eine Samenimpfung mit bestimmten Organismen, die zu einer unmittelbaren Anreicherung in der Umgebung des Samens oder der Wurzel führen kann, von Erfolg begleitet sein könnte. Die Stoffausscheidung durch Samen und Wurzel wird in vielen Fällen eine Entwicklung ermöglichen. Eine kräftige Impfung wird dann einem an dieses Milieu gut angepaßten Organismus einen entscheidenden Entwicklungsvorsprung vor den übrigen Organismen geben können.

Diese Möglichkeit muß aber weitgehend davon abhängen, ob die Ausscheidungen des Samens und der Wurzeln eine selektive Wirkung auf die Mikroorganismen ausüben. Nach eigenen Untersuchungen scheint das nun in der Tat der Fall zu sein. Nach einer von Stille (1950) bei der Untersuchung der Ausscheidungen keimender Samen erprobten Methodik wurde die Wirkung der Rizosphärenausscheidungen auf eine Anzahl von Bodenpilzen (darunter auch der Stamm K 6, *Penicillium* sp.) untersucht. Auf 6 mm große, aus einer Petrischale mit sterilem Leitungswasseragar mit Hilfe eines Korkbohrers herausgestanzte, kreisrunde Agarstückchen wurden 6 mm große Stücke steril herangezogener Wurzeln verschiedener Pflanzen (Weizen, Gerste, Hafer, Kohl) für 6 Tage so aufgelegt, daß sie in einem gleichmäßigen losen Kontakt mit dem Agarstückchen standen. Die Samen, aus denen die Wurzeln gezogen wurden, waren 15 Minuten in 0,15% Sublimatlösung gebeizt, zweimal mit sterilem Wasser gewässert (je 5 Minuten) und dann auf Biomalzagar unter Kontrolle ihrer Sterilität zum Keimen gebracht. Wurzelstücke, die nicht mit dem Agar in Berührung kamen, also nicht durch Nährstoffe des Biomalzagars verunreinigt wurden, waren leicht zu erhalten, da die Wurzeln beim Eindringen in den Agar häufig bogenförmig in die Höhe gepreßt werden. Die Agarplättchen, die der Anreicherung der Wurzelausscheidungen dienten, wurden stets zu je vier in einer Petrischale ausgelegt. Zwei Plättchen wurden mit den Wurzelstücken belegt, die beiden anderen dienten als Kontrollen. Jeder Versuch wurde in mehrfacher Wiederholung angelegt, so daß also für jede Versuchsnummer jeweils mehrere Parallelen zur Verfügung standen.

Nach Entfernung der Wurzeln, die sich am Schluß der Untersuchungen noch als lebend erwiesen, wurden alle Agarstückchen gleichmäßig mit den Sporen von *Aspergillus niger*, K 6 (*Penicillium* sp.), L 1 (*Cladosporium* sp.) oder L 8 (*Verticillium glaucum*) bestäubt und das Wachstum der Pilze nach 2 und 6 Tagen kontrolliert. Die in der Tabelle 1 zusammengefaßten Ergebnisse zeichneten sich durch eine bemerkenswerte Übereinstimmung zwischen den parallelen Versuchen aus, so daß die beobachteten, deutlichen Differenzen im Verhalten der Pilze als gesichert angesehen werden dürfen.

Aspergillus niger, der auf reinem Agar keimt, sich aber nur schwach entwickelt, wird also durch die Ausscheidungen der Wurzeln aller untersuchten 4 Pflanzenarten sehr stark und stets in annähernd gleichem Maße (s. u.) gefördert. Es besteht also keine deutliche Abhängigkeit der Wurzelwirkung auf die Entwicklung des Pilzes von der Artzugehörigkeit der untersuchten Pflanzen. Dagegen läßt *Penicillium* sp. (K 6) auf dem reinen Agar keinerlei Anzeichen von Entwicklung, ja nicht einmal einer Keimung der Sporen erkennen. Doch trat auch hier nach dem Auflegen der Wurzeln eine immerhin merkliche, aber in jedem Fall von der Artzugehörigkeit unabhängige Entwicklung ein. Eine artspezifische Wirkung der Wurzelausscheidungen ist also bei *Aspergillus niger* kaum ausgeprägt und fehlt bei *Penicillium* (K 6) ganz. Viel schwächer, aber doch noch nachweisbar war die Wirkung der Wurzelausscheidungen bei dem Stamm L 1 (*Cladosporium* sp.), während sie bei *Verticillium glaucum* schließlich ganz fehlt. Umgekehrt ist bei *Cladosporium* sp. die Entwicklung auf dem reinen Agar deutlich besser als bei *Aspergillus niger* und *Penicillium* sp., um bei *Verticillium glaucum* ein recht beachtliches Ausmaß zu erreichen. Das Wachstum des Pilzes auf den mit Wurzelexkreten infiltrierten Agarscheiben ist also gegenüber den Kontrollen um so weniger gesteigert, je besser die Myzelbildung auf dem reinen Agar ist. Die Wirkung der Wurzelausscheidungen hängt also augenscheinlich davon ab, ob der Pilz für seine Entwicklung einen in dem reinen Leitungswasseragar fehlenden, aber in den Wurzelexkreten vorhandenen Stoff benötigt.

Man könnte schließlich noch darauf hinweisen, daß *Aspergillus niger* durch die Exkrete der Haferwurzeln offensichtlich viel deutlicher gefördert wird als durch die Ausscheidungen der Kohlwurzeln. Es könnte hier also eine artspezifische Wirkung der Wurzelexkrete vorliegen, wie sie sonst durchweg fehlt. Obwohl dieser Befund sich in allen Parallelen bestätigte, ist doch anzunehmen, daß es zum Nachweis einer deutlichen artspezifischen Wirkung der Wurzelausscheidungen der Untersuchung einer größeren Anzahl von artverschiedenen Wurzeln bedarf. Dieser Befund mag also nur als ein Hinweis auf die Existenz solcher Wirkungen aufgefaßt werden.

Wir dürfen somit feststellen: Die Wurzeln von Weizen, Gerste, Hafer und Kohl scheiden Stoffe aus, welche die Entwicklung einer Reihe von Pilzen auf Leitungswasseragar mehr oder minder deutlich beeinflussen. Die Förderung des Wachstums hängt dabei vor allem von der Art des Pilzes, niemals (mit einer Ausnahme) dagegen von der Artzugehörigkeit der untersuchten Wurzeln ab. Wir können dabei unter den Bedingungen des Versuchs Pilzarten feststellen (*Aspergillus niger, Penicillium* sp.), die unter diesen Versuchsbedingungen

generell durch Stoffausscheidungen aus den Wurzeln begünstigt werden. Andere Forme reagieren dagegen kaum (L 1) oder gar nicht (L 8).

Tabelle 1

Die Wirkung von Wurzelausscheidungen verschiedener Pflanzen auf die Pilze *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. und *Verticillium glaucum*

Pilzart	Artzugehörigkeit der Pflanzenwurzel:							
	Weizen		Gerste		Hafer		Kohl	
	(W)	(K)	(W)	(K)	(W)	(K)	(W)	(K)
Aspergillus niger . .	+++ +++	+ +	+++ +++	+ +	+++ ++++	+ +	++ ++	+ +
Penicillium sp., K 6	++ ++	— —	++ ++	— —	++ ++	— —	++ ++	— —
Cladosporium sp., L 1	+++ +++	++ ++	++ +++	++ ++	++ +++	++ ++	++ +++	++ ++
Verticillium glaucum, L 8	nicht untersucht		+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++	+++ +++

Erklärung der Zeichen: + = Sporenkeimung, aber keine merkliche weitere Entwicklung. ++ = schwaches Wachstum. +++ = deutliches Wachstum. ++++ = kräftigeres Wachstum. — = fehlende Keimung und Entwicklung.

Die obere Reihe in jeder Kolumne gibt die Entwicklung des betreffenden Pilzes nach zwei, die untere Reihe derselben Kolumne nach 6 Tagen.

Links (W) ist jeweils das Wachstum des Pilzes auf Agarstückchen nach Auflegen der sterilen Wurzeln, rechts (K) die Entwicklung des betreffenden Pilzes auf den Kontrollen angegeben.

Von den eingangs angeschnittenen Gesichtspunkten aus ist es besonders interessant, daß der stets sehr stark die Entwicklung von Getreide begünstigende Stamm K 6 (*Penicillium* sp.) durch die Ausscheidungen der Wurzeln sehr deutlich gefördert wird. Allerdings bleibt vor einer Übertragung der Ergebnisse auf den natürlichen Boden zu prüfen, ob im Boden die Ausscheidungen der Wurzeln und des Samens von gleicher Bedeutung sind wie in reinem Agar. Dazu bedarf es der Klärung der Frage, welches der für den Entwicklungsstillstand von K 6 auf reinem Agar verantwortliche Faktor ist.

Selbstverständlich können aus diesen Ergebnissen keinerlei Schlußfolgerungen über etwaige entwicklungsfördernde Einflüsse seitens derjenigen Mikroflora gezogen werden, die sich in natürlichen Böden in der Spermatosphäre entwickelt. Es handelt sich hier, wie Cholodny platten, die unter die Samen gelegt werden, erkennen lassen, stets um eine Mischung verschiedenster Mikroben. Nach den vorliegenden Untersuchungen sind aber hemmende Effekte nicht seltener als fördernde. Man wird daher unter natürlichen Verhältnissen durch die Pilzentwicklung in der Spermatosphäre nur allzuleicht mit Hemmungswirkungen seitens der Mikroflora rechnen müssen, zumal solche ungünstigen Einflüsse fördernde Wirkungen kaschieren können. Die fördernde Wirkung der Beizung mit Quecksilberbeizmitteln, die zu einer starken Hemmung der Mikroflora in der Spermatosphäre führt, steht also in keinerlei Widerspruch zu den hier gemachten Erfahrungen. Sie gründen sich auf der, in der Natur

wohl nur selten anzutreffenden, extremen Förderung einer Pilzart durch die Bedingungen des Experimentes. Fraglich bleibt, ob sich diese Bedingungen mit hinreichender Sicherheit reproduzieren lassen, und ob bejahendenfalls diese Reproduzierbarkeit mit einfachen Mitteln erreicht werden kann. Nach den bisherigen Erfahrungen der Bodenmikrobiologie wird man beide Fragen schwerlich bejahen können.

Zusammenfassung

Die Entwicklung von Weizen, Roggen, Hafer und Gerste wird durch die Impfung der Samen mit verschiedenen Bodenpilzen stark beeinflußt. Insbesondere die Stämme L 5 (*Chaetomium* sp.) L 6 (*Fusarium* sp.), K 5 (*Chaetomium* sp.) und K 6 (*Penicillium* sp.), fördern die Jugendentwicklung aller 4 Getreidearten in einem zur Zeit der Keimung kaum spürbaren, aber in den folgenden Wochen ständig zunehmenden Ausmaße. Entwicklungssteigerungen über 100% bei stark erhöhter Bestockungsfreudigkeit sind nach 4 Wochen nicht selten zu verzeichnen. Es kommt allem Anschein nach zu einer Entwicklung dieser Pilze in der Umgebung des Samens und der Wurzeln, die dann eine Steigerung der Pflanzenentwicklung herbeiführt. Es kann gezeigt werden, daß die Wurzeln von Weizen, Gerste, Hafer und Kohl Substanzen ausscheiden, die die Entwicklung einiger Pilze (*Aspergillus niger* und *Penicillium* sp.) auf Leitungswasseragar steigern oder überhaupt erst ermöglichen (*Penicillium* sp.). Andere Pilze sind dagegen von diesem in den Exkreten der Wurzeln vorhandenen Nährstoffaktor weitgehend (*Cladosporium* sp.) oder ganz (*Verticillium glaucum*) unabhängig. Die Wurzelexkrete haben also für die Entwicklung von Bodenpilzen eine unterschiedliche Bedeutung. Die Ausscheidungen von Weizen, Kohl, Gerste und Hafer wirken dabei zumeist (mit einer Ausnahme) in gleicher Weise. Eine Artspezifität der Wurzelexkrete trat also unter den Bedingungen dieser Versuche in der Regel nicht hervor.

Schrifttum

Eaton, M. and Rigler, E., Influence of carbohydrate levels and root-surface microfloras *Phymatotrichum* root rot in cotton and maize plants. Journ. Agric. Res. **72**, 137, 1946.

Gassner, G. und Franke, W., Einige Versuche über den N-Haushalt lichtkeimender Samen im dunklen Keimbett. Zeitschr. f. Botanik **28**, 446, 1935.

Hulpoi, N., Demonstration von Mikroorganismen der Rhizosphäre vermittels der Aufwuchsplattenmethode nach Cholodny. Archiv f. Mikrobiologie **7**, 579, 1936.

Isakowa, A. A., On the influence of bacteriorhizal microorganisms on the germination of seeds. C. r. (Doklady) Acad. Sci. USSR **14**, 463, 1937.

Isakowa, A. A. und Smirnowa, A., The influence of various microbe complexes of bacteriorhizas on the development of higher plants. C. r. (Doklady) Acad. Sci. USSR **14**, 397, 1937.

Mannozi-Torini, L., Influence des produits d'excrétion des champignons du sol sur le dévelopment du blé. Soc. Internat. Microbiol. Sez. Ital. **4**, 244, 1932.

Stille, B., Untersuchungen über die Bedeutung der Rhizosphäre. Archiv f. Mikrobiologie **9**, 477, 1938.

Stille, B., Eine mikrobiologische Methode zum Nachweis von Samen- und Wurzelausscheidungen. Archiv f. Mikrobiologie **15**, 149, 1950.

Rippel, A., Allgemeine Grundlagen der mikrobiologischen Bodenuntersuchung (Bestimmung der Zahl). Forschungsdienst **1**, 28, 1936.

Schwarz-Kraepelin, H., Über das Vorkommen eines Pilzhäutchens in den Samen. Zeitschrift für Naturforschung **2b**, 450, 1947.

Starkey, R. L., Some influences of the development of higher plants upon the microorganisms in the soil. VI. Microscopic examination of the rhizosphere. Soil Sci. **45**, 207, 1938.

Timonin, M. I., The interaction of higher plants and soil microorganisms. I. Microbial population of rhizosphere of seedlings of certain cultivated plants. Can. Journ. Res., Sect. C. Bot. Sci. Ottawa **18**, 307, 1940.

Waksman, S. A., Principles of soil microbiology. Baltimore 1932.

Winter, A. G., Der Einfluß partieller Sterilisation des Bodens auf die Entwicklung der Laufhyphen von *Ophiobolus graminis*. Phytopathol. Zeitschr. **14**, 204, 1942.

Winter, A. G,, Untersuchungen über die Beziehungen zwischen *Ophiobolus graminis* und anderen Organismen mit Hilfe der Aufwuchsplattenmethode. Archiv f. Mikrobiologie **14**, 240, 1949.

Winter, A. G., Rhizosphäre und Krankheitsresistenz. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten **56**, 93, 1949.

Winter, A. G. und von Rümker, R., Die Bedeutung der Mikroflora der wurzelnahen Zone für die Resistenz gegen Pilzkrankheiten. Die Naturwissenschaften **36**, 30, 1949.

Winter, A. G. und von Rümker, R., Die Mikroflora der Rhizosphäre als resistenzbestimmender Faktor. Archiv f. Mikrobiologie **15**, 72, 1950.

Anschrift des Verfassers: Bonn, Zülpicherstraße 13

Aus der Biologischen Zentralanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem

Viruskrankheiten der Tomaten

Von

Dr. H. A. Uschdraweit

Mit 11 Abbildungen

Viruskrankheiten an Tomaten spielen im Ausland schon seit längerer Zeit eine wichtige Rolle, während sie in Deutschland zwar gelegentlich beobachtet wurden (Pape, Kotte), aber wirtschaftlich kaum in Betracht kamen. Erst K. Hahmann und H. Müller berichteten von schweren Schäden im Hamburger Gebiet. Ihre Beobachtungen decken sich weitgehend mit den Erfahrungen in Berlin und seiner näheren und weiteren Umgebung.

Etwa seit 1947 nehmen die Tomatenvirosen in Berlin und Umgegend ständig zu. Wenngleich die Möglichkeit besteht, daß die Zunahme zeitbedingt ist und bei veränderten Witterungs- und Kulturverhältnissen einen Rückgang erfahren könnte, lehren uns doch die Beispiele des Auslandes, daß Vorsicht sehr am Platze ist. Beobachtungen in Gärtnereien, vor allem aber auch in Klein- und Vorgärten zeigen, daß ein großer Prozentsatz der angebauten Tomaten an einer Reihe von Viruskrankheiten leidet. Da es bisher an Studien über die in Deutschland auftretenden Viruskrankheiten fehlt und die obengenannten Autoren sich auf das Schrifttum des Auslandes oder nur auf Symptombeschreibung beschränken, erschien es notwendig festzustellen, welche Virusarten bei uns bisher vorkommen.

Strichelkrankheit

Seit dem Sommer 1947 wurde in der Biologischen Zentralanstalt, Berlin-Dahlem, eine Tomatenvirose beobachtet, die aus einem Garten in Wildpark, Potsdam, stammt (in folgendem Wildparkvirus genannt). Sie ist durch Abreibung leicht von Tomate auf Tomate zu übertragen. Die Symptome treten je nach Wachstumsverhältnissen etwa am 11. Tage auf. Es entstehen zuerst kleine mattgrüne Flecke, die rasch dunkelbraun bis schwarz und nekrotisch werden (Abb. 1). Sie erscheinen vorwiegend auf den Fiederblättchen in der Nähe des Stengels und zwar am Blattgrunde. Die Flecke sind rund oder auch unregelmäßig geformt und vergrößern sich häufig schnell, so daß die Nekrose bald einen großen Teil des Fiederblattes oder auch des ganzen Blattes einnimmt; das Blatt erscheint dann wie verbrannt. Der restliche Teil des Blattes vergilbt oder vertrocknet meistens. Fast gleichzeitig treten auf den

Abb. 1
Strichelkrankheit der Tomate

Blattstielen und auf den Stengeln dunkle Striche auf, die sehr verschieden lang sein können; von diesen hat die Krankheit den Namen Strichelkrankheit erhalten. Sie sind auf Abb. 1 und besonders deutlich auf Abb. 2, einer vergrößerten Teilaufnahme, zu sehen. Während die bisher genannten Symptome der Blattflecke fast nur auf Organen gebildet werden, die zur Zeit der Infektion noch nicht voll ausgebildet waren, treten die Striche auch auf Stengelteilen auf, die schon älter sind. Bei früher Infektion und schwerem Befall sterben ganze Teile der Pflanze mitsamt dem Herzen ab. Ältere Blätter werden häufig in sehr charakteristischer Weise beeinflußt: die Mittelrippe des Blattes krümmt sich bogenförmig nach unten, auch die einzelnen Fiederblätter biegen sich nach unten um. Das Blatt macht fast den Eindruck des Welkens, doch deutet die verkrampfte und starre Haltung darauf, daß es sich um eine dauernde Entstellung handelt (siehe Abb. 3 und 4). Diese Erscheinung

Abb. 2
Nekrotische Striche auf Stengel und Blattstiel (vergrößert)

ist jedoch, wie viele Beobachtungen zeigen, nicht typisch für die Strichelkrankheit, sondern tritt auch bei anderen Virosen der Tomate, wohl unter bestimmten Umständen und besonders häufig im Gewächshaus auf. Im allgemeinen ist diese Verkrampfung das einzige Symptom, das auf älteren Blättern erscheint. — Wird der Vegetationspunkt nicht zerstört, so wächst die Pflanze weiter, die neu entwickelten Triebe sind jedoch meist sehr schwach, die Blätter entstellt, häufig mit deutlicher Mosaikzeichnung, die Blütenausbildung unregelmäßig und der Fruchtansatz sehr spärlich. Bei diesem neuen Austrieb können gelegentlich die Nekrosen fehlen oder sind wesentlich schwächer. Die nach der Infektion angesetzten Früchte bleiben meistens klein, zeigen aber beim Wildparkvirus keine Entstellungen und Nekrosen, wie sie Hahmann und Müller abbilden. Das gesamte Wachstum der Pflanze ist stark beeinflußt, wobei der Zeitpunkt der Infektion von großer Bedeutung ist. Das zeigt sehr deutlich Abb. 3. Die rechte Pflanze ist 10 Tage, die mittlere 25 Tage nach dem Topfen infiziert worden, die linke Pflanze ist die gesunde gleichaltrige

Abb. 3
Infektionszeitversuch mit der Strichelkrankheit der Tomate. Von rechts nach links: 10 Tage nach dem Topfen infiziert, 25 Tage nach dem Topfen infiziert, gesunde Kontrolle

Abb. 4
Die Strichelkrankheit und ihre Komponenten. Von links nach rechts: Kontrolle, Ausgangsmaterial, Kartoffel-X-Virus-Komponente, Tabakmosaik-Komponente, Kombination der Komponenten

Kontrolle. Diese Beobachtung war der Anlaß zu dem weiter unten beschriebenen Feldversuch.

Diese Symptome stimmen weitgehend mit denjenigen überein, die in der ausländischen Literatur für das Mischvirus aus Tabakmosaikvirus (*Marmor tabaci* H. = *Nicotiana virus 1* n. Smith) und Kartoffel-X-Virus (*Annulus dubius* H. = *Solanum virus 1* n. Smith) beschrieben werden, das gewöhnlich als „tomato severe streak" oder „tomato double virus streak" bezeichnet wird, im Gegensatz zu einem „streak", das mit ähnlichen, aber schwächeren Symptomen durch einen Stamm des Tabakmosaiks ohne Mischung hervorgerufen wird. Eine Nachprüfung mit den entsprechenden Testpflanzen konnte den Beweis erbringen, daß auch das Wildparkvirus aus diesen zwei Komponenten besteht. Der Nachweis gelang mit *Nicotiana glutinosa*. Diese Art reagiert bei Abreibung mit TM durch kleine runde Primärläsionen, die nach wenigen Tagen auf den Blättern als eingesunkene Flecke erscheinen. Diese sind im Beginn graugrün, werden dann pergamentähnlich, hell und glänzend und umgeben sich schließlich mit einem dunkeln nekrotischen Rand, während die Mitte hell bleibt. Das Tabakmosaikvirus bleibt auf diese Läsionen beschränkt, wird also nicht systemisch. Dagegen dringt das X-Virus in die gesamte Pflanze ein und äußert sich in einer gelbgrünen, unregelmäßigen Scheckung der jüngsten Blätter. Durch Abreibung des Wildparkvirus auf *Nicotiana glutinosa* ist es also möglich, das X-Virus von dem Tabakmosaikvirus zu trennen. Ähnlich verhalten sich *Datura stramonium* und *Dat. metel.* Auch hier wird das Tabakmosaikvirus in Primärläsionen der Abreibeblätter lokal festgehalten, während leichte X-Stämme schwache, undeutliche Scheckung, stärkere dagegen deutliche Scheckung und kleine nekrotische Flecke auf den später ausgebildeten Blättern hervorbringen können.

Daß es sich bei dem durch Passage mittels *Nicotiana glutinosa* isolierten Virus um das X-Virus der Kartoffel handelt, konnte durch den Test auf *Gomphrena globosa* nach Köhler bewiesen werden. Zur völligen Sicherung wurde auch der serologische Nachweis nach der Blättchenmethode (Stapp und Marcus, Stapp und Bercks) mit Material, das Oberregierungsrat Dr. Stapp liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt hatte, mit Erfolg geführt. Das aus dem Wildparkgemisch isolierte X-Virus ergibt bei *Nicotiana tabacum Samsun* auf jüngeren Blättern einige konzentrisch in 2—3 Kreisen angeordnete ringförmige Zeichnungen in zarten hellen Linien. Auf späteren Blättern erscheinen zuerst hellere, ins Gelbliche spielende Flecke auf den Interkostalfeldern, die langsam schärfere Konturen annehmen, welche zum Teil vom Adernetz bestimmt sind und Ovale oder aus Ovalen und Ringen zusammengesetzte Formen darstellen. Auf Tabak Gold B sind die Erscheinungen ähnlich, nur bleibt auf den späteren Blättern das Mosaik im allgemeinen verschwommen und nur selten treten ringförmige oder ovale Zeichnungen etwas schärfer hervor. Auf Tomaten zeigen sich zuerst verkrampfte Blätter. Später entwickelt sich auf höheren Blättern ein sehr schwaches Mosaik, undeutlich und wolkig ohne scharfe Konturen; daneben tritt eine dunkle Aderumrandung auf, die sich gegen die nur wenig lichteren Interkostalfelder abhebt. Die Umrisse des Blattes sind etwas eckiger als bei Kontrollpflanzen, auch sind

die Pflanzen im ganzen heller und in ihrem Wachstum schwächer als die Kontrolle.

Eine Trennung des Tabakmosaiks aus dem Wildparkgemisch mußte theoretisch dadurch zu erreichen sein, daß man Teile kranker Pflanzen trocknete. Das X-Virus wird dann inaktiviert, während das Tabakmosaikvirus praktisch unbegrenzt in trockenen Pflanzenteilen, sogar in fermentiertem Tabak, infektiös bleibt. Der praktische Versuch bewies diese Möglichkeit. Der so gewonnene Tabakmosaikstamm ist besonders charakterisiert dadurch, daß er bei Abreibung auf *Nicotiana tabacum Samsun*, aber auch auf anderen Sorten Primärläsionen hervorruft, was die meisten Tabakmosaikstämme nicht oder nur sehr selten unter besonderen Umständen tun. Die Lokalläsionen ähneln denen des Tabakmosaiks auf *Nicotiana glutinosa*, sind jedoch größer. Im Unterschied zu dieser Pflanze erkranken die *Nicotiana-tabacum*-Sorten aber regelmäßig systemisch und zeigen die bekannten Symptome des Tabakmosaiks, nämlich deutliche Mosaikscheckung mit gelegentlicher blasiger Auftreibung dunkelgrüner Partien und häufig auch mit Blattentstellungen. Darüber hinaus kommen beim Wildpark-Tabakmosaik auch vielfach Nekrosen auf Blättern im weiteren Wachstumsverlauf vor und die Blattentstellungen sind meistens schwerer als die anderer Tabakmosaikstämme. Auf Tomaten treten Verkrampfungen älterer Blätter und leichtere oder schwerere Mosaikverfärbungen auf. Daneben kommt es zu Blattentstellungen, die sich besonders in einer Zuspitzung der Zähnung äußern. Es ist anzunehmen, daß das Tabakmosaik-Virus des Wildparkgemisches dem *Marmor tabaci* var. *canadense* Holmes nahe steht oder mit ihm identisch ist.

Es interessiert nun, das Verhalten der Tomate gegen das Virusgemisch nicht nur mit dem gegen die einzelnen Komponenten, sondern auch gegen ein künstliches Gemisch zu vergleichen, um einen Anhalt zu haben, ob vielleicht außer den beiden noch andere Virusarten vorhanden sind. Abb. 4 zeigt von links nach rechts eine Kontrollpflanze, dann Infektionen mit dem Ausgangsmaterial, der X-, der Tabakmosaik-Komponente und der künstlichen Kombination von X plus Tabakmosaik. Dieser Versuch wurde in größerer Wiederholung mehrere Male angesetzt und brachte immer wieder dasselbe Ergebnis, so daß die Anwesenheit eines dritten Virus nicht wahrscheinlich ist. Die Abbildung zeigt neben der sehr ähnlichen Wirkung des Ausgangsmaterials und der künstlichen Kombination die im Verhältnis dazu sehr geringen Schäden, die durch die einzelnen Komponenten auf der Tomate hervorgerufen werden. Wohl treten die verkrampften Blätter auch bei Infektion mit den beiden Komponenten auf, auch ist das Wachstum etwas behindert. Nicht sichtbar sind auf der Abbildung die Scheckungen, die bei beiden Virusarten auftreten können, aber häufig so schwach sind, daß sie auf dem Felde meistens übersehen werden. Diese Erfahrungen decken sich mit Versuchen von Ainsworth.

Zufällig wurde auf dem Versuchsfeld der Biologischen Zentralanstalt Berlin-Dahlem im Juli 1949 auf einer Kartoffelstaude der Sorte D 103 des BZA-Kartoffelsortiments ein auffälliges Tabakmosaik beobachtet, das an X-Virus erinnerte. Bei den Abreibungen auf verschiedene Solanaceen ergab sich wahrscheinlich infolge eines Versuchsfehlers eine Mischinfektion auf *Nicotiana tabacum Samsun*. Diese zufällige Mischung schädigte bei Übertragung auf

Tomaten diese in erheblichem Maße. Die betreffenden Pflanzen zeigten zwar nicht so ausgesprochene Nekrosen wie nach Infektion mit dem Wildparkgemisch, das Wachstum wurde jedoch schwer beeinflußt. Außerdem zeigten die jungen Blätter eine auffällige Gelbstichigkeit der Mosaikzeichnung (Abb. 5).

Abb. 5
Das D 103-Virusgemisch auf Tomate

Bei der Analyse erwies sich dieses Virusgemisch (im folgenden als D 103 bezeichnet) als ein Produkt eines schwachen Kartoffel-X-Stammes und einer Tabakmosaik-Komponente, die zu der Gelbstammgruppe gehört. Versuche, die noch nicht abgeschlossen sind, lassen vermuten, daß dieses Tabakmosaikvirus nicht einheitlich ist, sondern sich aus mindestens zwei Stämmen zusammensetzt. (Aus einer Reihe von Versuchen ist zu entnehmen, daß es sich bei vielen Viren, die in der freien Natur vorkommen, um Mischungen mehrerer Stämme handeln muß.)

Um den Einfluß einer Virusinfektion mit Mischviren, gleichzeitig aber auch den Einfluß des Zeitpunktes der Infektion zu studieren, wurde ein Versuch mit 39 Kultursorten des Tomatensortimentes der Biologischen Zentralanstalt, Aschersleben angelegt. Die Tomaten wurden im Gewächshaus ausgesät und dann in Töpfen im Kasten vorgezogen. Während der Anzucht wurde keine einzige Virusinfektion beobachtet, das Ausgangsmaterial war also einwandfrei. Am 22. Mai wurden die Tomaten ins Freie gepflanzt und zwar von jeder Sorte eine Reihe mit 35 Stück. Nr. 1—6 jeder Reihe wurden am 26. Mai infiziert und zwar 1—3 mit dem Virusgemisch D 103, 4—6 mit dem Wildparkvirus. Dieser Zeitpunkt wurde gewählt, um die Auswirkung einer Infektion beim Pflanzen zu studieren. Aus technischen Gründen wurde erst abgewartet, daß die jungen Pflanzen keine Welkeerscheinungen mehr zeigten. Die Pflanzen wurden durch Berührung mit der Hand, die mit Preßsaft von krankem Ausgangsmaterial benetzt war, infiziert und zwar wurden je Pflanze zwei Blätter berührt. Am 6. Juni erschienen die Symptome, bei den Pflanzen 1—3 die für D 103 charakteristischen Gelbscheckungen, bei den Wildparkinfektionen kleine Nekrosen auf den Blättern. Abb. 6 zeigt die Anpflanzung am 12. Juni. Die ersten 3 Reihen zur äußersten Rechten sind mit D 103, die darauf folgenden 3 Reihen mit Wildpark infiziert, der Rest ist noch gesund. Deutlich ist die relativ größere Schädigung durch das Wildparkvirus. Alle infizierten Pflanzen waren krank geworden. Die Anpflanzung litt im

Beginn etwas unter Trockenheit, erholte sich dann aber sehr gut, so daß vom 20. bis zum 23. Juni zum erstenmal angebunden und gegeizt werden konnte. Die Pflanzen hatten zu dieser Zeit die erste Fruchttraube angesetzt, die zweite blühte. Dieser Zeitpunkt erschien für eine zweite Infektion geeignet, da gerade durch die vielfältige Berührung beim Anbinden und Geizen Gelegenheit zur Infektion ist. Sie erfolgte am 23. Juni (Nr. 7—9 mit D 103, 10—12 mit Wildpark) auf dieselbe Art wie bei der ersten Infektion. Die Symptome erschienen am 5. Juli. Die dritte Infektion wurde am 10. Juli vorgenommen, als zum zweitenmal angebunden werden sollte. In diesem Zeitpunkt hatten die Pflanzen die zweite Traube angesetzt, während die dritte fast abgeblüht war (siehe auch Abb. 7). Wieder wurden je drei Pflanzen und zwar 13—15 mit D 103, 16—18 mit Wildpark infiziert, also insgesamt 9 Pflanzen mit D 103, 9 mit Wildpark, während der Rest von 17 Pflanzen als Kontrolle, bzw. zur Samengewinnung diente. Der Erfolg der dritten Infektion trat nicht so gleichmäßig wie bei der ersten und zweiten ein. Die ersten Symptome erschienen am 22., am 24. zeigte der größte Teil deutliche Krankheitserscheinungen; aber trotzdem sich alle Pflanzen bei späterer Beobachtung als krank erwiesen, verzögerte sich bei manchen der Zeitpunkt der ersten Symptomäußerung um mehrere Tage. An sich ist es bekannt, daß ältere Pflanzen langsamer

Abb. 6
Feldversuch mit Mischviren. Von rechts nach links: 3 Reihen D 103-Gemisch, 3 Reihen Wildparkgemisch. Von Bildmitte nach links: gesund

Abb. 7
Tomate Immun, gesund, am 10. Juli aufgenommen

und unregelmäßiger auf Virusinfektion reagieren, in diesem speziellen Fall wäre es jedoch möglich, daß leichte Bodenunterschiede im Bereich der dritten Infektion und der ersten Kontrollpflanzen die Ursache für diese Verzögerung und auch für einige andere Unstimmigkeiten des Versuches sein könnten. — Am 8. August wurden die gesunden Pflanzen über der fünften Traube geköpft, bei kranken Pflanzen erübrigte sich diese Maßnahme, da es nur selten zu einer fünften Traube mit nennenswertem Ansatz kam. Bei allen Arbeiten (Hacken, Anbinden, Geizen, Ernten) wurde darauf geachtet, daß die gesunden Pflanzen, die mit D 103 und die mit Wildpark infizierten getrennt behandelt wurden, um jede zusätzliche Infektion auszuschließen. Da die Virusgemische dieses Versuches ausschließlich durch Berührung und nicht durch Insekten übertragen werden, ließ sich Fremdinfektion so gut vermeiden, daß nur eine einzige Pflanze Mitte August an einem Virusgemisch erkrankte und ausgeschaltet werden mußte. Im Laufe der Entwicklung traten jedoch einige wenige Fälle der Stauche- oder Zwergkrankheit (siehe unten) auf, die in den Zahlenangaben der Ernteergebnisse nicht berücksichtigt werden. Die Ernte begann am 13. Juli, wurde nach Bedarf bis zu zwei Mal je Woche durchgeführt und am 7. Oktober beendet. Der drohenden Nachtfrostgefahr wegen wurden zu diesem Zeitpunkt alle Früchte, auch die noch unreifen, geerntet.

Abb. 8
Dieselbe Tomate wie Abb. 7 am 10. Juli infiziert, am 8. August aufgenommen

Das Wachstum der Anpflanzung war, von den obenerwähnten Bodeneinflüssen abgesehen, befriedigend. Die offene Lage des Versuchsstückes ergab bei der verhältnismäßig trockenen Witterung ein gedrungenes Wachstum. Trotzdem nur einmal künstlich beregnet wurde, konnten in der Kontrolle befriedigende Ernten erzielt werden. Wie oben erwähnt, entwickelten sich die Symptome bei der ersten und zweiten Infektion gleichmäßig am 11. Tage, bei der dritten vom 11. Tage an etwas unregelmäßig, auch in bezug auf die Symptomausprägung. Die ersten Anzeichen waren die obenerwähnten verkrampften Blätter, die allerdings nicht so regelmäßig vorkamen wie im Gewächshaus, und die gelbliche Scheckung bei D 103 und Nekrosen bei Wildpark.

Die Wildparkpflanzen schienen, schon durch die auffallenden Nekrosen, schwereren Schaden zu erleiden als die D 103-Pflanzen. Kurz nach der deutlichen Symptomausprägung trat sowohl bei der ersten wie bei der zweiten Infektion nach einigen trüben Tagen plötzlich trockene, sehr heiße Witterung mit grellem Sonnenschein ein, durch die beide Infektionsreihen, insbesondere aber die Wildparkreihe, sehr schwer in Mitleidenschaft gezogen wurden. Innerhalb von 48 Stunden wurde ein großer Teil der jüngeren Blätter gelb und trocknete rasch ein. Die für die Mischvirusinfektion typischen Strichelzeichnungen auf Stengel und Blattstielen waren meistens, jedoch nicht immer zu beobachten; beim Wildparkvirus waren sie deutlich und zahlreich und dadurch viel verderblicher als bei D 103, wo sie nur gelegentlich auftraten.

Die Pflanzen der ersten Infektionsreihen entwickelten sich im Laufe des Sommers nach dem ersten Schock langsam weiter. Einige Sorten, Lukullus, Bonner Beste, Sieger, Condine Red, Überreich und Goldkönigin erholten sich besser als der Rest. Die Mosaiksymptome führten weiterhin zu schweren Entstellungen der Blätter und zu schwächlichen dünnen Trieben (siehe Abb. 9 links), aber einige Pflanzen blühten zwar reichlich, setzten jedoch keine oder nur sehr minderwertige Früchte an. Nekrosen waren bei diesem neuerlichen Austrieb im allgemeinen nicht sehr schwer, bei einigen Pflanzen traten sie jedoch so heftig auf, daß ältere Blätter völlig abstarben und die Triebe mit den toten Blättern einen ähnlichen Eindruck machten wie die Stengel Y-viruskranker Kartoffeln. Bei der zweiten Infektion, bei der die erste Traube bereits angesetzt war, wurden diese Früchte voll ausgetragen, die zweite Traube jedoch war meist reduziert und von den folgenden wurden nur wenige, vielfach sehr kleine Früchte ausgebildet. Beim Wildparkvirus trat die Erscheinung des Abtrocknens der Blätter sehr viel auf, gelegentlich starben auch noch Blätter ab, die zum Zeitpunkt der Infektion schon voll entwickelt waren, eine Erscheinung, die bei D 103 nicht zu beobachten war. — Die dritte Infektion vom 10. Juli erfolgte etwa beim Ansatz der dritten Traube. Die ersten beiden Trauben wurden meist normal ausgetragen, die dritte erlitt vielfach erhebliche Schäden. Auch bei dieser Infektion wurden ältere Blätter schwer geschädigt, zum Teil völlig nekrotisch. Trotzdem

Abb. 9
Tomate Sieger. Von links nach rechts: 1. Infektion 26. Mai, 2. Infektion 23. Juni, 3. Infektion 10. Juli, 4. Kontrolle, aufgenommen am 10. August

diese Infektionsreihe sowohl im Zeitpunkt der Symptomausprägung als auch in der Symptomausbildung erhebliche Schwankungen aufwies, waren die Schädigungen hier im allgemeinen sehr schwer. Auffällig war besonders hier eine Erscheinung, die sich auch gelegentlich im Gewächshaus zeigt, daß nämlich das Absterben die seitlichen Fiederblätter, vom Stengel her nach der Spitze fortschreitend, gelegentlich auch nur einseitig, ergreift, während die Endblätter grün bleiben. Wildpark schädigte auch bei dieser Infektionsreihe mehr als D 103; in einem Drittel der Fälle wurde das Herz der Pflanzen so sehr in Mitleidenschaft gezogen, daß es nicht oder nur sehr spärlich wieder austrieb. Nur wenige Pflanzen erholten sich ähnlich wie nach der ersten und der zweiten Infektion. Abb. 7 und 8 zeigen dieselbe Pflanze der Sorte Immun aus der dritten Infektionsreihe. (In diesem Feldversuch wurde Immun, eine ausgesprochene Buschtomate, aufgebunden, damit sie nicht zuviel Raum einnahm.) Abb. 7 wurde am 10. Juli, dem Tag der dritten Infektion aufgenommen. Man sieht, daß die ersten beiden Trauben angesetzt haben, und die dritte bereits abgeblüht ist. Abb. 8, am 8. August aufgenommen, zeigt die schwere Schädigung. Auf Abb. 9, am 10. August aufgenommen, sieht man 4 Pflanzen der Sorte Sieger aus der Infektionsreihe mit D 103, die zum Photographieren in Töpfe gesetzt wurden. Sie zeigen die verschieden ablaufende Entwicklung der drei Infektionsreihen neben einer Kontrollpflanze. Die Pflanze Nr. 1 (erste Infektion), von der einige Früchte bereits geerntet sind, läßt den zweiten, „erholten" Trieb, der aber durchaus entstellt ist, deutlich erkennen, auch der geringe Ansatz dieses Zuwachses ist gut zu sehen. Die Pflanze Nr. 2 — auch hier sind bereits Früchte geerntet — zeigt die gut entwickelte zweite Traube, aber auch den Schaden, der durch das Virus hervorgerufen ist. Die Pflanze hatte zu dem Zeitpunkt der Aufnahme sich noch nicht so weit erholt, daß ein neuer Austrieb erfolgen konnte. Die dritte Pflanze läßt die Zerstörung der jüngeren Blätter zwar noch nicht deutlich erkennen, aber im Vergleich mit der gesunden Pflanze wird die schwere Wachstumsbehinderung deutlich. Die oben beschriebenen nekrotischen Schäden traten bei dieser dritten Infektion erst Mitte August auf.

Die starke Beeinflussung des Wachstums legte den Gedanken nahe, die Höhe zu verschiedenen Zeitpunkten zu messen. Folgende Tabelle zeigt die Messungen bei der Sorte Sieger 10 in Prozentzahlen, wobei die Durchschnittshöhe der Kontrolle vor dem Köpfen als 100% angesetzt wurde.

Tabelle 1

Datum	D 103			Wildpark			Kontrolle
	1.	2.	3.	1.	2.	3.	
	Infektion			Infektion			
29. Juni . . .	36	38	43	24	37	41	50
11. Juli . . .	40	52	62	29	46	63	74
21. Juli . . .	44	52	67	32	49	70	85
3. August . .	49	56	81	33	54	77	100

Die geringe Zahl von Pflanzen (je Infektion 3, Kontrolle 17) ergibt nur ein ungefähres Bild, zeigt aber die Wachstumsbeeinflussung in genügender

Schärfe. In der ersten Infektionsreihe wird auch die stärkere Schädigung durch Wildparkvirus deutlich, während sie sich bei der 2. und 3. Infektion in der Höhe der Pflanzen nicht bemerkbar macht. Bei den anderen Kultursorten ergab sich ein ähnliches Bild; die Kontrolle zeigte ausnahmslos bedeutend höhere Werte als die infizierten Pflanzen. Innerhalb der Infektionsreihen ergaben sich besonders bei D 103 kleine Unstimmigkeiten dadurch, daß das erneute Wachstum bei der 1. Infektion gelegentlich höhere Werte erzielte als die noch stagnierenden Pflanzen der 2. Infektion. Die 3. Infektionsreihe war bei einzelnen Sorten durch Bodeneinflüsse etwas schwächer im Wachstum.

Tabelle 2

Sorte	D 103			Wildpark			Kontrolle
	1.	2. Infektion	3.	1.	2. Infektion	3.	Absoluter Ertrag je Pflanze kg
	In % der Kontrolle						
Bonner Beste	9,3	33,8	31,6	7,4	13.7	36,3	1,440
Lukullus 4	19,1	32,8	68,7	8,6	41,6	57,8	2,330
Lukullus 5	13,4	24,6	44,0	9,6	28,9	38,0	2,668
Lukullus 6	10,2	46,6	70,3	28,2	27,0	62,9	2,543
Radio	3,6	53,5	75,8	9,0	21,3	22,3	2,032
Sieger 8	9.5	38,3	55,1	17,7	14,6	44,0	2.444
Sieger 9	13,0	25.0	47,1	12,4	19,3	47,7	2,426
Sieger 10	5,9	30,7	35,2	6,0	15,4	41,1	1,914
Rheinlands Ruhm 11	3,2	32,4	45,8	5,6	16,3	45,5	2,162
Rheinlands Ruhm 12	4.8	16,9	92,6	5,8	14,9	39,3	1,941
Rheinlands Ruhm 13	6,2	31,0	69,2	6,1	20,3	34,5	2,138
Condine Red	12,1	41,3	68,7	15,5	23,1	53,9	1,976
Überreich	10,8	35,4	66,6	6,8	21,7	51,7	2,056
Große Fleischtomate	2,5	32,2	69,3	5,6	28,9	41,0	1,741
Hellfrucht 17	11,4	38,3	75,9	11,5	30.6	25,9	2,082
Hellfrucht 18	7,7	21,6	63,6	7,6	28,0	28,3	1,808
Goldkönigin	27,8	29,0	61,0	7,9	29,5	62,7	1,935
Immun	1,9	14,7	29,2	0,0	13,1	47,5	1,626
22/557	20,7	18,1	59,6	16,8	19,4	52,2	0,772
23/550	5,3	12,2	70,3	2,5	10,5	52,9	1,045
24/566	11,2	16,4	51,7	5,7	11,9	54,0	1,321
25/552	7,2	18,6	54,6	5,5	13,0	32,4	1,520
26/567	12,3	26,0	56,8	15,3	16,3	48,3	1,526
27/553	6,7	18,6	50,2	3,8	16,1	44,8	1,379
28/504	10,3	14,0	54,9	9,2	13,1	46,5	1,161
29/519	14,3	17,4	60,1	7,3	9,6	64,5	1,803
30/555	16.3	21,1	65,5	9,2	8,4	48,8	2,168
31/Lfd. 133a	19,8	19,1	59,7	15,3	16.3	49,1	1,390
32/543	5,5	18,3	38,6	14,4	19,8	29,9	1,149
33/569	2,1	14,4	37,7	11,9	7,7	37,7	0,814
34/571	2,3	29,5	63.0	8,1	14,3	46,1	0,651
35/515	7,2	20,4	22,9	6,3	2,9	35,6	1,994
36/Rollstamm	8,3	23,9	35,5	9,3	7,1	37,3	1,475
37/Nichtrollstamm	5,3	14,5	28.0	10,6	12,3	35,1	2,284
38/Alice Roosevelt	17,4	47,2	42,6	20,2	14,8	56,8	1,285
39/Ailsa Gray	5,9	25,6	36,3	8,3	19.9	36,0	1,690
41/Tuckswood	12,4	21,6	34,8	19,4	16,5	41,5	2,162
43/Pierette 1948	10,3	30,0	39,9	12,3	9,9	46,5	1,312
Durchschnitt: Kultursorten	9,6	32,1	59,4	9,5	22,7	43,4	2,070
Durchschnitt: Gesamt	9,8	26.4	53,5	10,1	17,6	41,1	1,741

Von besonderem Interesse im Hinblick auf die praktische Bedeutung dieser Fragen ist die Auswirkung des Infektionszeitpunktes auf den Ernteertrag. Tabelle 2 gibt die Ernteerträge in Prozenten der Kontrolle je Sorte. Der Ertrag der Kontrolle wurde auf den Durchschnittsertrag einer Pflanze umgerechnet und zeigt eine für die Bodenverhältnisse und das recht trockene Jahr befriedigende Höhe bei den bekannten Kultursorten. Auch im Ernteertrag kommt meistens die wesentlich größere Schädigung durch das Wildparkvirus zum Ausdruck, die der allgemeine Stand auf dem Felde erwarten ließ. Ferner ist die Einwirkung des frühesten Infektionstermines durchaus eindeutig. Gelegentliche Abweichungen (Lukullus 6, Sieger 8, 9 bei Wildparkvirus) sind darauf zurückzuführen, daß diese Sorten sich verhältnismäßig gut nach dem ersten Schock erholten und später auch noch einige Früchte ansetzten. Die Früchte aller Infektionsreihen waren im Durchschnitt kleiner und schlechter ausgebildet. Nekrosen traten nicht auf, die Früchte der Wildparkreihe zeigten keine Besonderheiten, diejenigen der D 103-Reihe wiesen

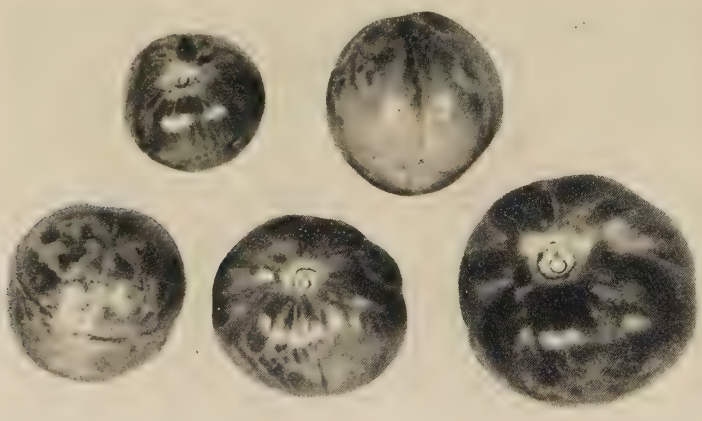


Abb. 10
Unreife Tomatenfrüchte von mit D 103 infizierten Pflanzen

bei wenigen Pflanzen in grünem Zustand Zeichnungen auf, die etwa der Mosaikzeichnung der Blätter entsprachen (Abb. 10), jedoch beim Ausreifen völlig verschwanden. Die Zusammenfassung der deutschen Kultursorten, ebenso wie die Gesamtzusammenfassung ergeben ein sehr klares Bild der vom Infektionstermin abhängigen schweren Schädigung im Ernteertrag. Ferner läßt sich aus der Tabelle ablesen, daß alle unsere Kultursorten in starkem Maße virusanfällig sind. Gelegentliche höhere Erträge einzelner Sorten sind durch die Versuchsanstellung nicht genügend gesichert, um eine Überlegenheit über andere Sorten ableiten zu können.

Stauche- oder Zwergkrankheit

Außer den beabsichtigten Virusinfektionen traten im Laufe der Vegetationsperiode bei einigen Pflanzen viröse Erscheinungen auf, die auch sonst

in Berlin und Umgebung häufig zu beobachten sind. Die Verteilung der befallenen Pflanzen in dem Versuchsstück deutete auf Insektenübertragung vom Nordwesten her. In der Nordwestecke wurden die ersten befallenen Pflanzen beobachtet, spätere Infektionen traten verstreut von diesem Zentrum aus im Bestand auf. Die kranken Pflanzen (Abb. 11) waren auffallend gestaucht, die Blätter meist sehr verkleinert, mehr oder weniger entstellt und rötlich angelaufen, der Blattrand war vielfach leicht aufgerollt. Das Wachstum der Pflanze stagnierte, Blüten wurden selten oder gar nicht ausgebildet und der Fruchtansatz unterblieb daher fast völlig. Diese Beobachtungen decken sich also weitgehend mit denen von Hahmann und Müller aus Hamburg und Umgegend. — Diese Virose ist durch Pfropfung und Abreibung auf Tomaten zu übertragen und bringt auf *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana glutinosa* und *Datura metel* deutliche Symptome hervor. Die Übertragung durch Abreibung gelingt jedoch nicht das ganze Jahr über, im Hochsommer und Herbst ergeben sich Schwierigkeiten, da hier die Symptome fast völlig ausbleiben. Die Symptome bestehen bei den obengenannten Testpflanzen aus mehr oder weniger starker Verkrümmung der Blattspreite, die außerdem eine hellgrüne bis gelbgrüne unregelmäßige Verfärbung zeigt. Besonders auf *Nicotiana glutinosa* kommt es häufig zu einer gelbgrünen Chlorose, die die Pflanze sehr schwächt und sogar zum Absterben bringt. Diese Erscheinungen lassen vermuten, daß dieses Virus nicht, wie Hahmann und Müller annehmen, dem Tabakmosaikvirus nahe steht, sondern eher dem Gurkenmosaik *Marmor cucumeris* H. = *Cucumis virus 1* n. Smith verwandt ist. Nach Berichten des Auslandes wird die Fadenblättrigkeit als entscheidendes Symptom des Gurkenmosaiks angesehen. Echte Fadenblättrigkeit konnte allerdings an keiner der stauchekranken Pflanzen beobachtet werden.

Abb. 11
Stauche- oder Zwergkrankheit der Tomate

Tabakmosaik

In einem Gartenbaubetrieb Berlins trat dieses Virus schon an jüngsten Pflanzen auf. Es äußerte sich in deutlichen Blattentstellungen und ausnahmsweise auch in geringfügigen Nekrosen auf den Blättern. Trotzdem beim Auspflanzen alle verdächtigen Pflanzen ausgeschaltet worden waren, konnten Ende

Juli sehr viele kranke Pflanzen im Bestand beobachtet werden, ohne daß jedoch im Wachstum und im Ertrag größere Schädigungen eintraten. Die Symptome waren: Verschmälerung der Blätter, die in einzelnen Fällen bis zur Fadenblättrigkeit ging, Einrollen des Blattrandes und sehr unterschiedliche Mosaikzeichnungen. Sehr typisch war auch, daß die an sich stumpfe Zähnung der Fiederblätter spitzer wurde, häufig sogar in eine längere Spitze auslief. Der Blattaufbau war vielfach stark verändert. Bei manchen Pflanzen war die Zahl der Zwischenfiederblätter stark vermehrt, bei manchen stark reduziert. Der außerordentlich verschiedenen Symptome wegen wurden von charakteristischen Exemplaren Proben zum Pfropfen und Abreiben genommen. Dabei wurde jede direkte Berührung durch Verwendung von Papier beim Anfassen vermieden. Das Abschneiden geschah mit Rasierklingen, die nur einmal benutzt wurden. Die noch nicht abgeschlossenen Versuche zeigen, daß es sich in diesem Falle um Infektionen mit offenbar unterschiedlichen Stämmen des Tabakmosaiks handelt. Versuche mit *Nic. glutinosa* und die serologische Untersuchung erwiesen, daß Kartoffel-X-Virus in keinem Falle vorkam. Bei einigen Proben besteht aber der Verdacht, daß noch ein anderes Virus in Mischung mit Tabakmosaik auftritt.

Es wurde bei den vorstehenden Beobachtungen vermieden, den Ausdruck „Farnblatt" zu verwenden, der in der zahlreichen Literatur des Auslandes und auch bei Kotte und Pape gebraucht, aber nicht eindeutig definiert wird. Chamberlain verwendet in seinen Arbeiten den Ausdruck „tomato narrow-leaf" und vermeidet den sonst gebräuchlichen Ausdruck „fern leaf", der teils für Erscheinungen des Tabakmosaiks, teils für solche des Gurkenmosaiks gebraucht wird. Nach eigenen Beobachtungen mit verschiedenen Viren auf Tomaten konnten Erscheinungen, die eindeutig mit dem Ausdruck Fadenblatt charakterisiert sind, bisher nur beim Tabakmosaik konstatiert werden. „Farnblätter" traten hingegen als Folge durchaus verschiedener Viren in den verschiedensten Abwandlungen auf, wenn man mit diesem Ausdruck ein verschmälertes, gelegentlich spitz gezähntes Blatt bezeichnen will. Zum eindeutigen Erkennen einer bestimmten Viruskrankheit an Hand der Formveränderungen des Blattes reichen vorläufig weder eigene noch fremde Beobachtungen aus, da zur Ausbildung solcher Symptome neben den verschiedenen Viren auch noch Virusstämme und Virusgemische, vor allem aber auch Umweltfaktoren wie Licht und Temperatur ihren Einfluß ausüben.

Mit den genannten Virusarten ist die Zahl der in Berlin auftretenden Tomatenvirosen noch nicht erschöpft. Es werden in Berlin-Dahlem noch einige andere Krankheiten beobachtet, die zum Teil sehr schädigend auftreten können. Ihre Virusnatur konnte bereits durch Pfropfung nachgewiesen werden, aber ihre Eigenschaften und ihre Zugehörigkeit sind bisher nur unvollständig bekannt.

Einige Tomatenviren, die im Ausland zum Teil sehr verbreitet und auch wirtschaftlich bedeutungsvoll sind, konnten bisher in Berlin noch nicht beobachtet werden. Dazu gehören unter anderem die bereits in Mitteldeutschland nachgewiesene Bronzefleckenkrankheit (Spotted wilt = *Lethum australiense* H. = *Lycopersicum virus 3* n. Smith) und die in Deutschland noch nicht festgestellten Viren: Tomato bushy stunt = *Marmor dodecahedron* H. = *Lyco-*

persicum virus 4 n. Smith, das bisher nur in England beschrieben wurde und Tomato big bud virus = *Chlorogenus australiensis* H. = *Lycopersicum virus 5* n. Smith, das in Australien und vielleicht auch in Rußland und dem Nordwesten der US vorkommt.

Zusammenfassung

1. Die Tomatenvirosen nehmen in Deutschland vor allem in den Bezirken von Großstädten wie Berlin und Hamburg in den letzten Jahren zu.
2. Die hauptsächlichsten Viren sind das Tabakmosaikvirus allein, das Tabakmosaikvirus in Mischung mit dem Kartoffel-X-Virus als Strichelkrankheit und die Stauche- oder Zwergkrankheit, die vielleicht durch das Gurkenvirus hervorgerufen wird. Alle diese Virosen werden durch Berührung, die Stauche- oder Zwergkrankheit wahrscheinlich auch noch durch Insekten übertragen. Daneben treten noch andere bisher nicht identifizierte Viruskrankheiten auf.
3. Die Schäden, welche durch die Strichelkrankheit hervorgerufen werden, sind bedeutend und um so schwerer, je früher die Infektion erfolgt.
4. Die sogenannte „Farnblättrigkeit" ist noch nicht genügend scharf definiert, um als charakteristisches Symptom für ein bestimmtes Virus gelten zu können.

Literatur

Ainsworth, G. C., A comparision of certain English and Canadian potato viruses found infecting tomatoes. Ann. appl. Biol. **21**, 581—587, 1941.

Atkinson, J. D., Brien, R. M., Chamberlain, E. E., Cottier, W., Jacks, H., Ride, W. D. and Taylor, G. G., Tomato diseases and pests in New Zealand and their control. Dept. Sci. Ind. Res. Wellington, New Zealand 1949.

Doolittle, S. P., Tomato diseases. US. Dept. Agric. Bull. 1934, 1948.

Hahmann, K. und Müller, H., Viruskrankheiten der Tomaten. Gesunde Pflanzen **2**, 273—278, 1950.

Holmes, F. O., The filterable viruses. The Williams and Wilkins Comp., Baltimore 1948.

Köhler, E., Fortschritte beim Nachweis von Kartoffelvirosen mit der Testpflanzenmethode. Zeitschr. Pflanzenkrankheiten und -schutz **56**, 369—374, 1949.

Kotte, W., Die Farn- oder Fadenblättrigkeit der Tomate. Zeitschr. Pflanzenkrankheiten und -schutz **47**, 65—72, 1937.

Pape, H., Zur „Farn- oder Fadenblättrigkeit der Tomate". Zeitschr. Pflanzenkrankheiten und -schutz **47**, 619—620, 1937.

Smith, K. M., Textbook of plant virus diseases. Churchill, London 1937.

Stapp, C. und Bercks, R., Über weitere Antrocknungsversuche mit Seren gegen Kartoffelviren. Phytopath. Zeitschr. **15**, 47—53, 1948.

Stapp, C. und Marcus, O., Beiträge zur weiteren Vereinfachung der serologischen Virusdiagnose. Zentralbl. Bakt., II. Abt. **106**, 465—471, 1944.

Besprechungen

Broese, H., van Groenou, Rischen, H. W. L. und **van den Berge, J.**, Wood Preservation during the last 50 years. (Holzschutz während der letzten 50 Jahre.) Sijthoffs Uitgeversmaatsch., Leiden, Holland, 1951. 318 Seiten, 60 Abbildungen.

Die Bekämpfung holzzerstörender Pilze und Insekten wird zwar bereits seit langem betrieben, doch hat sich der Holzschutz trotzdem noch nicht so weit eingebürgert, wie dies an sich notwendig wäre. Der Grund hierfür ist darin zu suchen, daß einerseits eine intensivere wissenschaftliche Bearbeitung der Holzschutz-Probleme erst vor etwa zwei Jahrzehnten eingesetzt hat, anderseits aber zuverlässige Untersuchungen — wie bei der gesamten Forstwirtschaft — längerer Beobachtungszeiträume bedürfen. Nur langsam beginnt daher der Holzschutz das Stadium der primitiven Empirie zu verlassen.

Der Holzschutz als Fachgebiet fußt auf der Mykologie und der Entomologie genau so wie auf Chemie, Physik und Technik. Dies hat dazu geführt, daß die Holzschutzliteratur in den verschiedensten Büchern und Zeitschriften der ganzen Welt verstreut ist und dann noch die Spreu vom Weizen nur schwer zu trennen ist.

Die Verfasser haben sich nun bemüht das ganze vorliegende Tatsachenmaterial des gesamten Holzschutzes übersichtlich zusammenzustellen. Zu den bekannten Holzschutzbüchern Hahlke-Troschel-Liese und Sunt-Garatt bildet das vorliegende Werk durch seine besondere Art eine wertvolle Ergänzung. Der ganze Stoff ist in drei Teile geteilt. Nach kurzer Behandlung historischer und wirtschaftlicher Fragen werden die durch Pilze, Insekten und Meerwasserschädlinge hervorgerufenen Schäden besprochen. Sodann werden die Schutzverfahren, vom einfachen Anstrich bis zu den modernsten Varianten der Druckimprägnierung behandelt. Der zweite und umfangreichste Teil ist den chemischen Schutzmitteln gewidmet. Alle in der Praxis irgendwo verwendeten Schutzmittel werden, nach chemischen Komponenten geordnet, einzeln besprochen, sind es doch immer wieder bestimmte Grundzusammensetzungen, welche unter den verschiedensten Namen als Fertigpräparate gehandelt werden. Der dritte Teil schließlich befaßt sich mit den Instituten, an denen Holzschutz-Forschung betrieben wird. Sie werden länderweise aufgezählt mit ihren Arbeitsmöglichkeiten und Forschungsrichtungen.

Den Abschluß bildet eine Besprechung der in den verschiedenen Ländern üblichen Methoden zur Prüfung der Wirksamkeit von Schutzmitteln gegenüber den in Betracht kommenden Schädlingen, sowie die Bewertung von Eindringtiefe und anderen allgemeinen Eigenschaften der Mittel.

Das vorliegende Werk kann nicht als Lehrbuch bezeichnet werden, sondern als Handbuch. In mühsamer Kleinarbeit ist der Stoff mit allen wichtigen Literaturzitaten verarbeitet. Auch alle in Betracht kommenden Grundpatente sind zitiert. Zahlreiche Tabellen und gute Abbildungen ergänzen den Text. Wenn das Werk

auch in erster Linie wohl für den Forscher und den Fabrikanten auf dem Gebiet des chemischen Holzschutzes gedacht ist, so gibt es doch auch dem Phytopathologen einen guten Überblick über Entwicklung und Stand der Bekämpfung von Holzkrankheiten und manchen Hinweis für die allgemeine pflanzliche Pharmakologie.

Zycha, Hann. Münden.

Schmidt, E. W., Die kranke Pflanze. Berlin-Kleinmachnow, Gartenverlag G. m. b. H., 1949. 232 Seiten. DM 11,—.

Das Buch enthält mehr, als Titel und die einfache Aufmachung erwarten lassen. Es ist keine Aufzählung und Beschreibung der wichtigsten Pflanzenkrankheiten und -schädlinge, es ist die Geschichte von dem Werden unserer Kenntnisse vom immer wichtiger werdenden Gebiet des Pflanzenschutzes und soll Verständnis und Interesse für die wichtigsten Krankheiten und Schädlinge erwecken. Das Buch wendet sich an „jene Leser, die es erstlich angeht, die Landbebauer und Pflanzenbetreuer", ist also für einen breiten Leserkreis bestimmt; dementsprechend ist die Darstellung allgemein verständlich gehalten. Persönliche Erlebnisse und Erfahrungen sind in die oft mit Humor gewürzten Ausführungen eingestreut, um die Materie dem Leser näherzubringen und das Buch unterhaltsam zu gestalten. „Ein Lesebuch wurde geschrieben, und unterhaltsam soll es sich lesen: das war die Absicht." Kein Zweifel, daß es dem Verfasser gelungen ist, dieses Ziel zu erreichen.

Das Buch bietet aber nicht nur dem Praktiker einen außerordentlich anregend geschriebenen Überblick über das Wesen der Pflanzenkrankheiten, es ist auch für den Fachmann durchaus lesenswert und wertvoll. Die geschichtlichen Ausführungen sind exakt; wir haben bis heute kein Werk — und ich gebrauche hier absichtlich das Wort „Werk" —, das in gleicher Vollständigkeit „von geraden und krummen Forschungswegen und seltsamen Irrgängen" berichtet, welche die Wissenschaft im Laufe der letzten Jahrhunderte gegangen ist, bis der heutige Stand der Wissenschaft vom Pflanzenschutz erreicht werden konnte.

Das Buch gliedert sich in 8 Hauptkapitel: Vom Wissen um die kranke Pflanze, Rübenmüdigkeit, Die große Seuche der Kartoffel, Vom Getreidebrand, Rost, Mehltau und dem Mutterkorn, Vom Schorf und anderen Obstbaumschäden, Kranker Wald, Feinde der Reben, Der Pflanzenschutz. Auch die einzelnen Abschnitte enthalten mehr als die Überschriften andeuten; so ist im III. Abschnitt nicht nur der Werdegang unserer Kenntnisse von der *Phytophthora*erkrankung der Kartoffel, sondern auch Kartoffelkrebs, Viruserkrankungen und Kartoffelkäfer behandelt.

Alles in allem ein wertvolles Buch, das vieles bietet, was man sich sonst erst mühsam zusammensuchen muß; auch der akademische Lehrer wird dem Buch reichlich Anregungen entnehmen können.

Gassner.

Troll, Wilhelm, Das Virusproblem in ontologischer Sicht. Wiesbaden, Franz Steiner Verlag. 1951. 155 Seiten mit 40 Abbildungen.

Dieses glänzend geschriebene Buch ist eine Bekenntnis- und zugleich Streitschrift, bei der die Frage im Mittelpunkt steht: sind die pflanzenpathogenen Viren — um diese handelt es sich vorzugsweise — belebte oder unbelebte Naturkörper oder stellen sie etwa eine Übergangsbildung, eine Zwischenstufe zwischen diesen beiden dar? Vf. beantwortet diese Frage vom philosophischen Standpunkt der Schichtenlehre, die vier verschiedene Stufen des Seins unterscheidet, nämlich das anorganische Sein, das vegetabilische Sein und das animalische Sein, den Menschen. Jede dieser Stufen hebt sich von der sie unterbauenden Stufe durch ein „kategorisches Novum" ab, wobei das Prinzip der Überformung (Nik. Hartmann) wirksam ist. Diese

Auffassung verträgt sich nicht mit der Vorstellung, daß es Naturkörper gibt, die eine Zwischenstellung zwischen den belebten und den unbelebten einnehmen. Vf. ordnet die Virusarten der Pflanzen und gewisse ihnen ähnliche tierpathogene Viren (Maul- und Klauenseuche, Polyomyelitis-Virus u. a.) den unbelebten Naturstoffen zu; er nennt sie „Euviren" und stellt sie den als Mikroben aufzufassenden „Pseudoviren" gegenüber. Ihre Befähigung zur autokatalytischen Vermehrung im Wirtsplasma ist seiner Ansicht nach nicht als Kriterium ihrer Belebtheit anzusehen; sie unterscheiden sich diesbezüglich nicht prinzipiell von anderen lebenswichtigen Inhaltsstoffen der Zelle und können als entartete Plasmabausteine aufgefaßt werden.

Die auch für den Fachmann sehr lesenswerte Schrift wendet sich an ein größeres philosophisch und biologisch interessiertes Publikum. Um diesem das vorliegende Problem verständlich zu machen, werden die modernen Grundlagen der Zellbiologie ausführlich dargelegt. Das Buch ist in drei Teile gegliedert. Der erste Teil „Die Stellung des organismischen Seins im Aufbau der realen Welt" enthält die folgenden Kapitel: 1. Die Schichtenlehre. 2. Das organismische Sein. 3. Die Biologischen Grundfunktionen. Die Kapitelüberschriften des zweiten Teiles „Das Virusproblem" lauten: 1. Begriff und Wesen des Virus. 2. Vermehrung und Mutabilität der Viren. 3. Die Viren als entartete Plasmabausteine. Der dritte Teil „Virus und Urzeugung" enthält folgende Kapitel: 1. Die Urzeugungslehre. 2. Entstehungsbedingungen makromolekularer Naturstoffe. 3. Der Stand der Urzeugungsfrage. — Die oft sehr subjektiv gehaltenen Ausführungen dürften manche Kontroverse hervorrufen auch von seiten derer, die die Schichtenlehre N. Hartmanns anerkennen.

E. Köhler.

Aus dem Institut für Bakteriologie und Serologie der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig-Gliesmarode

Weitere Untersuchungen zur Frage der Altersresistenz der Kartoffelpflanzen gegen das X-Virus[1])

Von

R. Bercks

Einleitung

Bei Infektionsversuchen an 9 Kartoffelsorten mit 2—3 Stämmen bzw. Herkünften des X-Virus wurde im Jahre 1949 an Freiland- und auch Gewächshauspflanzen eine Altersresistenz beobachtet (4, 5, 6). Sie zeigte sich darin, daß bei älteren, aber voll grünen und z. T. noch erheblich wachsenden Pflanzen Infektionen gar nicht oder so schwach gelangen, daß das Virus nicht mehr von den Blättern des künstlich infizierten Triebes auf die übrigen Sprosse übergehen konnte. Damit war keine grundsätzlich neue Erkenntnis gewonnen. Denn die schon bei einer Reihe von Pflanzenarten gemachte Erfahrung zeigt, daß junge Pflanzen leichter und vollständiger mit Viren infiziert werden können als ältere. Bawden (1) gibt an, daß Kartoffel-X-Virus junge Tabakpflanzen leicht und auch systemisch infiziert, dagegen bei älteren Pflanzen nur lokale Läsionen hervorruft, eine Beobachtung, die man jederzeit machen kann. Köhler (10) hat schon 1938 darauf hingewiesen, daß die Kartoffelpflanze für Virusinfektionen um so empfänglicher ist, je jünger sie ist, und das Virus sich in der jungen Pflanze mit größerer Geschwindigkeit ausbreitet als in der alten. Irgendeine experimentelle Bearbeitung des ganzen Problems, vor allem auch bei der Kartoffel, ist mir nicht bekannt geworden. Allerdings hat Köhler (nach einer privaten Mitteilung vom 13. 3. 1951) schon im Frühjahr 1935 in Gewächshausversuchen festgestellt, daß sich verschiedene X-Stämme auf ältere Topfpflanzen verschiedener Kartoffelsorten durch Blatteinreibung nur mit ganz ungenügendem Infektionserfolg verimpfen ließen. Bei einem weiteren Versuch im Jahre 1936 mit jüngeren noch im lebhaften Wachstum begriffenen Pflanzen beobachtete er dann am Nachbau, daß eine große Zahl von Infektionen angegangen waren, allerdings nicht mit jedem Virus bei jeder Sorte[2]).

Da bei der Kartoffelpflanzguterzeugung gerade Spätinfektionen den Züchtern wegen ihrer beschränkten Bekämpfungsmöglichkeit Sorge bereiten

[1]) Über die Untersuchungen wurde bereits auf der Pflanzenschutztagung in Goslar am 12. 10. 1950 berichtet.

[2]) Herrn Oberregierungsrat Dr. Köhler, Celle, danke ich auch an dieser Stelle bestens dafür, daß er mir die bisher nicht veröffentlichten Angaben zur Verfügung gestellt hat.

und deshalb oft diskutiert worden sind, ist es verständlich, daß weite Kreise von unseren Feststellungen überrascht waren. Aus diesen Gründen setzten wir unsere Untersuchungen fort, wobei es zunächst darauf ankam, einige weitere X-Virus-Herkünfte zu prüfen und zum anderen einen Anhaltspunkt dafür zu gewinnen, wie weit die Altersresistenz durch Umweltfaktoren — im vorliegenden Fall durch die Düngung — beeinflußt werden kann.

Der Virusbefall der Pflanzen wurde wie früher nach der serologischen Blättchenmethode (18, 19) festgestellt.

Experimenteller Teil

a) Infektionsversuche mit verschiedenen X-Herkünften

Als Infektionsmaterial diente Blattpreßsaft von X-kranken Pflanzen der Sorten Direktor Johanssen, Kaiserkrone, Jubel, Prisca, Wekaragis und Flava. Das Versuchsmaterial bestand aus gesunden Freilandpflanzen von Flava und Capella, die zu 2 verschiedenen Zeitpunkten an je 3 Blättern eines Triebes in 10facher Wiederholung künstlich infiziert wurden. Die Bonitierung erfolgte 4—6 Wochen später.

Tabelle 1

Sorte Flava mit verschiedenen X-Herkünften infiziert

	DJ-X	KK-X	Pr-X	Wek-X	Jb-X
am 27. 5. 1950					
Blätter beimpfter Triebe	30/30	10/30	25/30	23/30	27/30
nichtbeimpfte Triebe	26/30	12/30	30/35	22/29	18/29
am 5. 7. 1950					
Blätter beimpfter Triebe	2/30	18/30	20/30	4/29	0/30
nichtbeimpfte Triebe	0/16	0/40	2/33	1/7	—

Tabelle 1 gibt die Verhältnisse für die Sorte Flava, die am 10. 5. 1950 im Freiland angepflanzt worden war, wieder. Ein Teil der Pflanzen wurde am 27. 5. 1950 mit den vorstehend genannten X-Virus-Herkünften infiziert. Wir prüften von jeder dieser Pflanzen 3 Blätter des beimpften Triebes, in jeder Versuchsreihe also 30. Dabei zeigte sich, daß der größte Teil der Blattproben positiv reagierte (1. Reihe der Tabelle), so waren z. B. bei den mit Prisca-X infizierten Pflanzen 25 von 30 Proben virushaltig. Das Virus vermochte auch weitgehend auf die übrigen T r i e b e überzugehen, wie die 2. Reihe der Tabelle ausweist, in der die Gesamtzahlen der übrigen untersuchten T r i e b e und die davon erkrankten angegeben sind. Bei den $5^1/_2$ Wochen später, am 5. 7. 1950, infizierten Pflanzen ist das Bild erheblich verändert. Von den jeweils wieder 30 Blattproben der beimpften Sprosse ist ein weit geringerer Teil erkrankt (s. 3. Reihe der Tabelle), im ganzen nur 44 gegenüber 115 bei den Frühinfektionen; im extremsten Fall (Jubel-X) reagierte keines der geprüften Blätter positiv. Nur von den Pflanzen, bei denen wenigstens e i n e Blattprobe des beimpften Triebes eine Virus-Reaktion gegeben

hatte, wurden auch die übrigen Sprosse geprüft und insgesamt nur 3 kranke gefunden. Es sei ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß aus der 4. Reihe der Tabelle also kein prozentualer Anteil der erkrankten Triebe abgelesen werden kann.

Tabelle 2

Sorte Capella mit verschiedenen X-Herkünften infiziert

	DJ-X	KK-X	Pr-X	Wek-X	Jb-X
am 20. 6. 1950					
Blätter beimpfter Triebe	0/30	0/30	8/30	15/24	24/30
nichtbeimpfte Triebe	—	—	18/29	25/42	51/54
am 29. 7. 1950					
Blätter beimpfter Triebe	4/123	—	12/98	68/94	9/74
nichtbeimpfte Triebe	0/5	—	0/15	0/33	1/10

In der Tabelle 2 sind die Ergebnisse bei der am 23. 5. 1950 ausgepflanzten Sorte Capella zusammengefaßt. Bezüglich der Altersresistenz ähneln die Ergebnisse denen bei der Flava. Die mit Prisca-, Wekaragis- und Jubel-X künstlich infizierten Pflanzen waren, wie die Tabelle ausweist, an den beimpften wie auch den übrigen Sprossen erkrankt. In der 1. Reihe der Tabelle handelt es sich wieder um die Blattproben der beimpften Triebe und in der 2. Reihe um die übrigen nicht beimpften Sprosse. Bei den am 29. 7. 1950, d. h. 5½ Wochen später, infizierten Pflanzen wurden nicht je infiziertem Trieb 3, sondern sämtliche Blätter geprüft (3. Reihe der Tabelle), um so das Ergebnis genauer zu gestalten. Es zeigte sich, daß noch 33% der Blätter Virus enthielten, während bei den ersten Infektionen 56% der Blattproben verseucht waren. Wie bei der Sorte Flava wurden allein von den erkrankten Pflanzen die übrigen, d. h. nicht infizierten Triebe untersucht, wobei sich das Virus nur in einem Sproß nachweisen ließ.

Zum Vergleich mit den früheren Befunden (4, 5) waren übrigens beide Kartoffelsorten auch mit Flava-X infiziert worden. Da die Ergebnisse den älteren entsprachen, wurden sie nicht in die Tabellen aufgenommen.

Die mit Direktor Johanssen- bzw. Kaiserkrone-X beimpften Capella-Pflanzen zeigten bei der ersten Infektionsserie in keiner der Blattproben eine Verseuchung. Trotzdem wurde mit DJ-X auch zu dem 2. Termin ein Infektionsversuch angestellt und sämtliche Blätter der infizierten Triebe geprüft, da wir damit rechneten, daß bei einer größeren Zahl von Blattproben als den untersuchten 30 des ersten Infektionsversuches u. U. noch in dem einen oder anderen Blatt X-Virus gefunden worden wäre. Diese Vermutung bestätigte sich nur insofern, als unter der Gesamtzahl von 123 Blättern der 10 Parallelen 4 kranke festgestellt wurden, bei denen es sich übrigens nur um künstlich infizierte handelte, in denen sich das Virus also noch lokal vermehrt hatte. Infolgedessen konnte bei den Infektionen mit Kaiserkrone-X auf eine Untersuchung der 2. Serie verzichtet werden, zumal sich auch schon in meinen früheren Versuchen (4, 5) gezeigt hatte, daß dieses Virus auf die Sorte Capella nicht übertragbar ist.

Bei der Auswahl der verwendeten X-Herkünfte wurden mit Absicht die in den „X-Trägern" Direktor Johanssen, Kaiserkrone und Jubel vorhandenen Viren berücksichtigt. Von Erstling-X ist bekannt, daß es nicht auf alle Sorten, z. B. auch nicht auf Capella (4, 5), übergeht, und wir wollten einen ersten Anhaltspunkt dafür gewinnen, ob sich die Viren anderer X-Träger ähnlich verhalten. Tatsächlich beobachteten wir, daß DJ- und KK-X sich bei den beiden geprüften Sorten in gleicher Weise wie Erstling-X verhielten, indem sie Flava, aber nicht Capella infizierten. Jubel-X fügte sich nicht in dieses Schema, da es auch Capella verseuchte.

Tabelle 3

Prüfung der Flava-Pflanze Nr. 1 am 29. 7. 50

Blatt Nr. [1]	Trieb I 55 cm
H 1 [2]	+ + / + + + [5]
H 2	+ + / + + +
H 3 v [4]	0
H 4 v	0
H 5	+ + +
H 6	+ + +
H 7	+ + + +
H 8	+ + + / + + + +
S 9 [3]	+ + + +
S 10	+ + + / + + + +
S 11	+ + +
H 12	+ + + / + + + +
H 13	+ + + +
H 14	+ + + +
H 15	+ + + +
H 16	+ + + / + + + +

Blatt Nr.	Trieb II 45 cm
H 1 v	0
H 2 v	0 ?
H 3 v	0 ?
H 4	+ + +
H 5	+ + + +
H 6	+ + +
H 7	+ + + / + + + +
H 8	+ + +
H 9	+ + + / + + + +
H 10	+ + / + + +
H 11	+ + +
H 12	+ + + / + + + +

Blatt Nr.	Trieb III 45 cm
H 1	0
H 2	0
H 3	0
H 4	0
H 5+6	0
H 7	0

Blatt Nr.	Trieb IV 36 cm
H 1	+ + +
H 2	+ + +
H 3	+ + +
H 4	+ + + +
H 5	+ + +
H 6	+ + + +
H 7	+ + +
H 8	+ + +

Blatt Nr.	Trieb V 26 cm
H 1	+ + +
H 2	+ + +
H 3	+ +
H 4	+ + +
H 5	+ + +
H 6	+ + +
H 7	+ + + / + + + +

Blatt Nr.	Trieb VI 38 cm
H 1	+ + + / + + + +
H 2	+ + + / + + + +
H 3	+ + +
H 4	+ + + / + + + +
H 5	+ + +
H 6	+ + / + + +
H 7	+ + + / + + + +
S 8	+ + +
S 9	+ + + / + + + +
S 10	+ + + +
H 11	+ + + +
H 12	+ + + / + + + +
H 13	+ + + +
H 14	+ + + +

Blatt Nr.	Trieb VII 40 cm
H 1	0
H 2	0
H 3	0
H 4	0
H 5	0
H 6	0

[1]) Nr. 1 = unterstes Blatt
[2]) H = Blatt vom Haupttrieb
[3]) S = Blatt eines Seitentriebes
[4]) v = vergilbt
[5]) Bonitierung von 0 bis + + + +, 0 = Spur

Tabelle 4

Prüfung der Flava-Pflanze Nr. 3 am 29. 7. 50

Blatt Nr.[1])	Trieb I i[4]) 64 cm
S 1[2])	+ +[5])
S 2	+ + +
S 3	+ + +
S 4	+++/++++
S 5	+++/++++
S 6	+++/++++
S 7	+ + + +
S 8	+ + + +
S 9	+++/++++
S 10	+++/++++
S 11	+ + +
S 12	+ + + +
S 13	+ + / + + +

Blatt Nr.	Trieb I i 64 cm
S 14	+ + +
S 15	+++/++++
S 16	+ + + +
S 17	+ + / + + +
S 18	+++/++++
S 19	+ + +
S 20	+++/++++
H 21[3])	0
H 22	+.++/++++/
H 23	+ + +
H 24	+ +
H 25	+++/++++
H 26	+ + + +

Blatt Nr.	Trieb II 77 cm
H 1	0
H 2	0
H 3	0
H 4	0
H 5	0
H 6	0
H 7	0
H 8	0
S 9	0
H 10	0
H 11	0
H 12	0
H 13	0
H 14	0
H 15	0
H 16	0

Blatt Nr.	Trieb III 60 cm
H 1	0
H 2	0
H 3	0
H 4	0
H 5	0
H 6	0
S 7	0
H 8	0
H 9	0

Blatt Nr.	Trieb IV 55 cm
S 1	+++/++++
S 2	+ + +
S 3	+ + +
S 4	+ + +
S 5	+++/++++
S 6	+ + +
H 7	+ + +
H 8	+ /+ +
H 9	+ + +
H 10	+ +
H 11	+++/++++
H 12	+++/++++

Blatt Nr.	Trieb V 45 cm
H 1	0
H 2	0
H 3	0
H 4	0
H 5	0
H 6	0
H 7	0

Blatt Nr.	Trieb VI 28 cm
H 1	0
H 2	0
H 3	0
H 4	0
H 5	0

Blatt Nr.	Treib VII 40 cm
H 1+2	0
H 3+4	0
H 5	0
H 6+7	0
H 8	0

Blatt Nr.	Trieb VIII 50 cm
S 1	0
S 2	0
S 3	0
S 4	0
H 5	0
H 6	0
H 7	0
H 8	0
H 9	0
H 10	0

Blatt Nr.	Trieb IX 42 cm
S 1	?
S 2	0
S 3	0
S 4	0
S 5	0
S 6	0
S 7	0
H 8	0
H 9	0
H 10	0
H 11+12	0
H 13	0
H 13	0

[1]) Nr. 1 = unterstes Blatt
[2]) S = Blatt eines Seitentriebes
[3]) H = Blatt vom Haupttrieb
[4]) i = infizierter Trieb
[5]) Bonitierung — bis + + + +, ♀ = Spur

b) Einfluß der Düngung

Die Sorten Flava und Capella wurden auf 7 seit 27 Jahren bestehenden Dauerdüngungsparzellen des Gliesmaroder Versuchsfeldes angebaut, ihre Düngung war folgendermaßen: 1. KPN + Kalk, 2. KPN, 3. ungedüngt, 4. ungedüngt + Kalk, 5. KP, 6. PN, 7. KN. Die Düngergaben betrugen pro Hektar: 60 kg Stickstoff als schwefelsaures Ammoniak, 60 kg P_2O_5 als Superphosphat, 120 kg K_2O als 40%iges Kali und 1600 kg Kalkmergel (Kopfdüngung). Die Vorfrucht war grün abgeerntetes Westerwoldesches Weidelgras. Die Bodenqualität war gering (Sand). PH-Messungen ergaben für die einzelnen Parzellen folgende Werte:

1. KPN + Kalk 7,5
2. KPN 6,7
3. ungedüngt 4,6
4. ungedüngt + Kalk 7,7
5. KP 7,1
6. PN 6,9
7. KN 6,7

Beide Kartoffelsorten wurden in Abständen von je einer Woche, beginnend bei einer Pflanzengröße von ungefähr 10 cm, laufend über ungefähr 2 Monate mit X-Virus aus Flava und zum größten Teil auch aus Erstling infiziert. Bei den ersten Infektionen arbeiteten wir mit je 4, später mit je 6 Wiederholungen pro Parzelle.

Infektionsversuche an der Sorte Flava

1. mit Flava-X

Die Sorte Flava wurde am 29. 4. 1950 auf allen Parzellen ausgelegt. Die ersten Infektionen führten wir am 26. 5. 1950 durch. In den Übersichten 1—9 sind die Größe der Triebe und Blätter für die einzelnen Parzellen angegeben. Sie beziehen sich nur auf die beimpften Triebe bzw. auf die beimpften Blätter selbst. Die Blattgröße schwankt zur Zeit der Infektion in jeder einzelnen Angabe um rund 100% und bleibt während der ganzen Versuchszeit annähernd gleich. Daraus geht hervor, daß wir zu den Impfungen nur jüngere Blätter auswählten, die nach der Infektion noch wuchsen.

Übersicht 1
(Infektionstermin 26. 5. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	5,5—13 cm M 9 cm	4,5—9 cm M 7,2 cm	— —	4—7 cm M 5,1 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	9—13 cm M 10,9 cm	10—11 cm M 10,3 cm	— —	5—7 cm M 5,8 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	42—64 cm M 50,2 cm	21—95 cm M 44,5 cm	— —	22—40 cm M 28,3 cm

M = Mittelwert

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	4—7,5 cm M 6,2 cm	5—10 cm M 7 cm	5,5—10 cm M 7,2 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	8—10 cm M 8,8 cm	9—14 cm M 11 cm	9—12 cm M 10,3 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	20—32 cm M 25,4 cm	21,5—41 cm M 32 cm	14—55 cm M 27,8 cm

M = Mittelwert

Die ersten Prüfungen der ersten Impfserie führten wir einen und die letzten zwei Monate nach der künstlichen Infektion durch, und zwar wurde von sämtlichen Sprossen jedes einzelne Blatt analysiert. Die Durchdringung war selbst nach 2 Monaten nur unvollständig, wie die in den Tabellen 3 und 4 aufgeführten Beispiele (Flava 1 und 3 vom 29. 7.) zeigen. Bei der Flava-Pflanze Nr. 2 war nach einem Monat zwar der künstlich infizierte Trieb verseucht; das Virus ließ sich aber in keinem anderen nachweisen. Bei einem Teil der Pflanzen ließ sich das Virus selbst nach 2 Monaten nicht einmal in jedem Blatt des beimpften Triebes beobachten. Im großen und ganzen war allerdings die Durchdringung nach 2 Monaten besser als nach einem, obgleich es auch vereinzelt vorkam, daß Pflanzen nach einem Monat stärker infiziert waren als andere nach zweien.

Die Unterschiede in der Verseuchung der einzelnen Parzellen waren nur gering und nicht gesichert — die Pflanzen der Parzelle 3 wurden wegen ihrer Kleinheit innerhalb dieser Serie noch nicht beimpft — so daß auf sie nicht eingegangen werden soll. Eine Ausnahme machten lediglich die Pflanzen der Parzelle 2, die eine fast vollständige Durchdringung zeigten. Im ganzen, d. h. bei sämtlichen Parzellen, waren von 108 nicht beimpften Trieben 60, d. h. rund 56% verseucht.

Übersicht 2

(Infektionstermin 2. 6. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	4—9 cm M 6,1 cm	4,5—8 cm M 6,3 cm	4—9,5 cm M 7 cm	3,5—6 cm M 5 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	8—10 cm M 9 cm	5—8,5 cm M 7,3 cm	7—10,5 cm M 8,2 cm	5—7 cm M 5,9 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	22—56 cm M 43,7 cm	25,5—66 cm M 43,5 cm	24—48 cm M 35,9 cm	18—23 cm M 20,8 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	5—9 cm M 7 cm	4—7 cm M 6,1 cm	6—10 cm M 8,5 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	8—10 cm M 9 cm	6—8 cm M 6,6 cm	6—10 cm M 7,5 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	22—31 cm M 28 cm	30—51 cm M 39 cm	32—62 cm M 40 cm

Die zweite am 2. 6. infizierte Serie wurde zum ersten Male am 7. 7. (nach 5 Wochen) und zum letzten Male am 4. 8. geprüft. Es war bei diesen wie auch den folgenden Versuchen aus technischen Gründen nicht mehr möglich, sämtliche Blätter einer Pflanze zu untersuchen. Wir mußten uns auf Durchschnittsproben der einzelnen Triebe beschränken, wobei die beimpften Sprosse eingehender, z. T. vollständig analysiert wurden. Dadurch wurde selbstverständlich eine geringe Unsicherheit in die Ergebnisse hineingetragen, die aber nach unseren bisherigen Erfahrungen in Kauf genommen werden konnte. Es stellte sich wiederum heraus, daß die künstlich infizierten Triebe im wesentlichen in allen Teilen erkrankt waren, obgleich eine Pflanze der Parzelle 2, deren beimpfter Sproß innerhalb 5 Wochen von 8,5 auf 55 cm gewachsen war, in dieser Zeit in den untersuchten Proben noch kein Virus erkennen ließ. Erst nach insgesamt 2 Monaten war dieser Trieb verseucht, während die übrigen Sprosse weiterhin keine Reaktion zeigten. Ihre Durchdringung war auch bei den anderen Pflanzen nur teilweise, größtenteils gar nicht zu beobachten. Eine einzige Pflanze (der Parzelle 1) war ganz verseucht. Der Grad der Virusdurchdringung war im allgemeinen schwächer als innerhalb der ersten Serie; von 105 nicht beimpften Trieben erwiesen sich 33, d. h. rund 31% als krank.

Übersicht 3
(Infektionstermin 9. 6. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	7—13 cm M 9,5 cm	6—14 cm M 9,8 cm	6—9 cm M 7,5 cm	4—8 cm M 6 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	12—21 cm M 16,8 cm	14—18 cm M 16,3 cm	11—13 cm M 12 cm	11—16 cm M 13,7 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	60—78 cm M 66,8 cm	50—100 cm M 77,5 cm	39—41 cm M 47 cm	20—38 cm M 29,5 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	6—8 cm M 6,8 cm	6—9 cm M 7,6 cm	4—9 cm M 6,4 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	10—16 cm M 13,5 cm	17—20 cm M 18,5 cm	12—17 cm M 14 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	24—38 cm M 32,3 cm	36—60 cm M 53 cm	41—76 cm M 57,3 cm

Die Pflanzen der 3. Serie waren bei der Beimpfung am 9. 6. im Durchschnitt deutlich größer als diejenigen der beiden ersten Impfserien. Das Virus ließ sich wiederum in fast allen künstlich infizierten Trieben nachweisen, während es von insgesamt 130 weiteren Sprossen nur bei 31 (ungefähr 24%) zu finden war. Von diesen entfielen 13 auf die Pflanzen der Parzelle 2 (KPN), bei denen wir schon innerhalb der 1. Serie die stärkste Verseuchung feststellten. Im übrigen waren diesbezüglich keine wesentlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Parzellen zu beobachten.

Übersicht 4

(Infektionstermin 16. 6. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	5,5—10 cm M 8,3 cm	7—14 cm M 9,4 cm	5—12 cm M 8,7 cm	4,5—12,5 cm M 6,9 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	12—20 cm M 16,2 cm	10,5—21 cm M 16,2 cm	9,5—14 cm M 12,4 cm	11,5—14 cm M 12,4 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	26—71 cm M 51,8 cm	27—76 cm M 52,8 cm	34—72 cm M 59,5 cm	22—41 cm M 29,6 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	5—9 cm M 6,5 cm	6,5—12 cm M 6,9 cm	6—11 cm M 6,6 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	11—14 cm M 12,1 cm	10,5—17,5 cm M 14,7 cm	15—23 cm M 18,5 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	18—41 cm M 26 cm	24—58 cm M 36 cm	18—67 cm M 38,3 cm

Bei den am 16. 6. 50 beimpften Pflanzen wurde zum ersten Male beobachtet, daß eine große Zahl der Infektionen nicht anging. Von 42 Stauden dieser Versuchsreihe gaben 29 nicht einmal an den infizierten Trieben positive Reaktionen. Bei den nicht infizierten Sprossen wurde nur in 2 von 34 Fällen (etwa 6%) eine Verseuchung festgestellt.

Übersicht 5

(Infektionstermin 23. 6. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	5—12 cm M 8,4 cm	6—13 cm M 8,7 cm	6—15 cm M 10 cm	5—10 cm M 7,2 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	18—30 cm M 23,5 cm	22—37 cm M 30,5 cm	13—26 cm M 20,3 cm	23—29 cm M 25,2 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	45—61 cm M 50,5 cm	49—61 cm M 54,8 cm	21,5—40 cm M 33,3 cm	24—32 cm M 27,3 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	5—9 cm M 6,8 cm	6—8 cm M 6,7 cm	5—13 cm M 8,1 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	18—23 cm M 19,7 cm	20—31 cm M 24,5 cm	16—26 cm M 19,5 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	24,5—43 cm M 32,5 cm	28—37 cm M 33 cm	54—65 cm M 59,8 cm

Die Pflanzen der 5. Serie waren bis zum Infektionstermin gegenüber den vorhergehenden wiederum deutlich gewachsen. Wie bei der vorstehenden Reihe verlief eine größere Zahl der Infektionen völlig negativ. Bei den kranken Pflanzen erwies sich von den Blattproben der beimpften Triebe oftmals nur ein Blatt als virushaltig. Von den übrigen 56 untersuchten Sprossen gaben nur 2 (3—4%) positive Reaktionen.

Übersicht 6

(Infektionstermin 30. 6. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	5—16 cm M 8,9 cm	4—12 cm M 7,9 cm	4,5—9 cm M 6,8 cm	4—10 cm M 6,8 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	19—28 cm M 25,3 cm	20—27 cm M 23 cm	13—19 cm M 15,8 cm	15—21 cm M 18,5 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	38—54 cm M 44,2 cm	39—65 cm M 48,7 cm	25—43 cm M 32,6 cm	21—28 cm M 24,2 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	4,5—10 cm M 7,4 cm	4,5—9 cm M 6,5 cm	5—10,5 cm M 7,6 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	14—18 cm M 17 cm	14—30 cm M 19,7 cm	18—22 cm M 20 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	20—45 cm M 35,5 cm	14—42 cm M 25 cm	41—60 cm M 53,4 cm

Übersicht 7

(Infektionstermin 6. 7. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	4,5—11,5 cm M 7,7 cm	4,5—11 cm M 8,2 cm	5—10 cm M 7,6 cm	4,5—9,5 cm M 6,3 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	29—37,5 cm M 33,2 cm	22—35 cm M 28,2 cm	20—24 cm M 21,8 cm	18—31 cm M 22,8 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	39—54 cm M 47,4 cm	35—60 cm M 48,7 cm	32—78 cm M 42,7 cm	22—32 cm M 25,3 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	5—8 cm M 6,3 cm	4,5—10 cm M 7,4 cm	4,5—10 cm M 7,3 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	18—25 cm M 20,7 cm	26—32 cm M 30 cm	15—30 cm M 23,5 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	19—27 cm M 22,6 cm	26—45 cm M 35 cm	15—36 cm M 26,3 cm

Übersicht 8

(Infektionstermin 14. 7. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	5—12 cm M 7,9 cm	5—11 cm M 7,6 cm	5—9,5 cm M 7,9 cm	5—10 cm M 6,6 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	33—44 cm M 37,2 cm	26—43 cm M 32,5 cm	22—31 cm M 25,8 cm	21—34 cm M 25 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	35—52 cm M 45,3 cm	26—66 cm M 44 cm	31—43 cm M 36 cm	21—35 cm M 28,5 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	5—10 cm M 7 cm	4,5—9 cm M 6,4 cm	5—10 cm M 7,3 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	17—26 cm M 21,3 cm	15—30 cm M 23,5 cm	24—30 cm M 27 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	24,5—36 cm M 24,8 cm	15—36 cm M 26,3 cm	28—53 cm M 36,7 cm

Übersicht 9

(Infektionstermin 21. 7. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	5—10 cm M 7,3 cm	5—9 cm M 7 cm	5—9 cm M 7,2 cm	4,5—8 cm M 6,6 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	35—59 cm M 44,2 cm	30—40 cm M 36,7 cm	20—35 cm M 28,3 cm	21—26 cm M 23,2 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	nicht mehr gewachsen	36—48 cm M 41,3 cm	22—38 cm M 31 cm	22—30 cm M 26 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	5—9 cm M 6,9 cm	5—9 cm M 6,7 cm	4,5—11 cm M 7,5 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	20—34 cm M 25 cm	23—41 cm M 28,3 cm	24—50 cm M 36 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	22—35 cm M 28,5 cm	— —	34—56 cm M 48,7 cm

Die Ergebnisse der weiteren Infektionsversuche waren im wesentlichen gleich. Sie können deshalb gemeinsam besprochen werden. Ein Teil der Infektionen ging wiederum nicht an, so daß in solchen Fällen auch die beimpften Triebe keine Reaktionen zeigten. In den übrigen künstlich infizierten Sprossen war zwar noch Virus anzutreffen, aber nur in seltenen Fällen zeigten sämtliche Proben eines Triebes einen positiven Befund. Oft handelte es sich nur noch um die eingeriebenen Blätter, von denen das Virus nicht mehr in nachweisbaren Mengen auf die anderen Blätter desselben Triebes übergehen konnte. Wie bei den schon beschriebenen Versuchen ließ sich der Krankheitsstoff in den übrigen Sprossen kaum noch finden. Die entsprechenden Zahlen waren für die 6. Versuchsreihe 76 gesunde und ein kranker Trieb; für die 7. Reihe 115 gesunde und 4 kranke, für die 8. Reihe 64 gesunde und 1 kranker und für die 9. Infektionsreihe 36 gesunde Sprosse.

Es ist noch zu bemerken, daß der Versuch gegen Ende durch das allmähliche Abreifen gestört wurde, welches sich in erster Linie bei den künstlich infizierten Trieben bemerkbar machte, so daß gelegentlich bei den Spätinfektionen die beimpften Sprosse nicht mehr, wohl aber die anderen Triebe geprüft werden konnten.

2. mit Erstling-X

Parallel zu den „Flava-X"-Infektionen führten wir auch solche mit „Erstling-X" durch. Das Ergebnis dieser Versuche war weit extremer. Das Virus konnte sich in nennenswertem Ausmaß nur in der 1. Infektionsserie der 1. Parzelle (KPN + Kalk) ausbreiten, d. h. es war in allen infizierten Trieben, wenn auch nicht vollständig, zu finden und ließ sich in 3 von 20 nicht beimpften Trieben nachweisen. Auf den übrigen Parzellen wurde nur hin und wieder ein krankes Blatt bei den beimpften Sprossen gefunden. Schon bei dem 2. Impftermin versagte das Infektionsvermögen des Virus auf allen Parzellen vollkommen. Eine gewisse Parallele dazu stellt das Ergebnis früherer Untersuchungen (5, 6, 7) dar, bei denen wir feststellen konnten, daß „Erstling-X" Laub der Sorte Flava nicht so schnell zu durchdringen vermag und auch die Knollen nicht im gleichen Umfang verseucht wie „Flava-X".

Infektionsversuche an der Sorte Capella

Die Sorte Capella legten wir am 23. 5. 50 auf allen Parzellen aus und nahmen die ersten Infektionen mit „Flava-X" an den jungen Pflanzen am 21. 6. 50 vor. Die Größe der beimpften Triebe bzw. Blätter zur Zeit der einzelnen Impftermine und der Prüfung ist aus den folgenden Übersichten zu entnehmen. Nach den Erfahrungen bei der Sorte Flava und aus technischen Gründen nahmen wir die Prüfungen anfangs erst nach 2 Monaten vor; nur bei den späten Infektionen ließ sich diese Zeit nicht mehr ganz einhalten, weil die Pflanzen allmählich abreiften, sie wurden z. T. nach 6 bis 7 Wochen untersucht.

Übersicht 10

(Infektionstermin 21. 6. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	4—12 cm M 7,9 cm	6—12 cm M 8,5 cm	4—9 cm M 6,2 cm	5—9 cm M 6,9 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	10—13 cm M 11,8 cm	9—14 cm M 12,8 cm	6—10 cm M 8 cm	8—13 cm M 11 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	32—60 cm M 49 cm	46—70 cm M 59,3 cm	30—50 cm M 38,3 cm	21—29 cm M 25 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	5—9 cm M 7,1 cm	5—10 cm M 7,7 cm	5—9 cm M 7,2 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	10—12 cm M 11 cm	8—11 cm M 9 cm	10—13 cm M 11,3 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	16—32 cm M 23,3 cm	19—31 cm M 23,8 cm	38,5—82 cm M 49,6 cm

Übersicht 11

(Infektionstermin 27. 6. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	7—13 cm M 9,4 cm	5—10 cm M 8,4 cm	5—9 cm M 6,6 cm	6—10 cm M 7,3 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	9—19 cm M 14,3 cm	11—17 cm M 13,8 cm	9—11 cm M 10 cm	11—15 cm M 12 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	42—64 cm M 50,3 cm	30—45 cm M 38 cm	26—28 cm M 27,5 cm	23—28 cm M 25,8 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	5—9 cm M 7 cm	4—9 cm M 6,4 cm	5—9 cm M 6,8 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	8—10 cm M 9 cm	8—10,5 cm M 9,1 cm	5—7 cm M 5,8 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	22—31 cm M 28 cm	15—40 cm M 26,8 cm	25—35 cm M 27,5 cm

Ebenso wie bei der Sorte Flava ging schon die erste Infektion (Übersicht 10) verhältnismäßig schwach an. Zwar erkrankten die künstlich infizierten Triebe zum größten Teil und auch an allen Blättern, aber der Anteil der kranken nicht beimpften Sprosse lag verhältnismäßig niedrig, von insgesamt 110 erwiesen sich 43, d. h. 39%, als verseucht. Das Ergebnis der 2. Versuchsreihe (Impftermin 27. 6. 50, Übersicht 11) war ähnlich. Wiederum

erkrankten die künstlich infizierten Triebe, während von 102 nicht beimpften 35, d. h. rund 34%, Virus-Reaktionen gaben. Auffallende Unterschiede zwischen den einzelnen Parzellen traten nicht auf, wenngleich die Pflanzen der Parzelle 2 (KPN) nach dem ersten Infektionstermin besonders stark erkrankten. Sie lieferten innerhalb ihrer Versuchsreihe die Hälfte (21 von 43) der nicht beimpften aber trotzdem verseuchten Sprosse.

Übersicht 12
(Infektionstermin 5. 7. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	5—13 cm M 8,6 cm	5—11 cm M 8,1 cm	4,5—11 cm M 7,6 cm	4,5—10,5 cm M 7,3 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	11,5—27 cm M 17,3 cm	11—18 cm M 14,3 cm	8,5—12 cm M 9,9 cm	5—11,5 cm M 9,1 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	38—64 cm M 50,2 cm	32—62 cm M 42 cm	27—35 cm M 29,7 cm	18—23,5 cm M 20,5 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	5—12 cm M 7,3 cm	5—11 cm M 7,8 cm	4,5—8 cm M 7 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	5—13 cm M 10 cm	11—15 cm M 12 cm	6,5—10 cm M 8,5 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	19—34 cm M 25 cm	22—32 cm M 28,2 cm	29—47 cm M 35 cm

Übersicht 13
(Infektionstermin 12. 7. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	4,5—13 cm M 9,3 cm	5—13 cm M 8,9 cm	5—14 cm M 8,9 cm	6—10 cm M 7,4 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	14—20 cm M 18,2 cm	15—21 cm M 18,5 cm	12—16 cm M 14,5 cm	13—16 cm M 14,8 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	30—36 cm M 31,7 cm	24—48 cm M 35,5 cm	20—30 cm M 24,5 cm	18—20 cm M 18,8 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	5,5—12 cm M 8,2 cm	5—11 cm M 8,5 cm	6—11 cm M 8,4 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	12—17 cm M 14,8 cm	14—18 cm M 16,2 cm	12—15 cm M 13,2 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	18—28 cm M 21,7 cm	19—29 cm M 22,8 cm	22—38 cm M 30,3 cm

Die am 5. 7. 50 (3. Termin, Übersicht 12) infizierten Pflanzen zeigten zum ersten Male einen größeren Anteil von negativ verlaufenen Infektionen. Bei der Mehrzahl der positiven Fälle war auch die Durchdringung der beimpften Triebe nur noch schwach und beschränkte sich z. T. auf einzelne Blätter. Dementsprechend war der Prozentsatz der erkrankten übrigen Sprosse ebenfalls gering. Er betrug bei den Pflanzen, deren beimpfte Sprosse einzelne oder eine größere Zahl von positiven Reaktionen gaben, nur noch 4 % (von 78 Trieben reagierten 3 positiv). Ähnlich lagen die Verhältnisse bei den am 12. 7. 50 (Übersicht 13) infizierten Pflanzen. Von 153 untersuchten nicht beimpften Trieben gaben 15, d. h. ungefähr 10%, Virus-Reaktionen.

Übersicht 14
(Infektionstermin 19. 7. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	4,5—11 cm M 7,8 cm	5—12 cm M 7,8 cm	5—11 cm M 7,7 cm	4,5—9,5 cm M 7 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	24—31 cm M 28 cm	16—24 cm M 21 cm	13—22 cm M 17,5 cm	14—19 cm M 16,3 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	36—57 cm M 48,2 cm	35—57 cm M 43,5 cm	18—28 cm M 26 cm	16—25 cm M 21,5 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	6—10 cm M 7,6 cm	4,5—10 cm M 6,9 cm	4,5—10 cm M 7,3 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	12—21 cm M 17,3 cm	15—20 cm M 17,3 cm	12—19 cm M 14,8 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	18—33 cm M 24,2 cm	19—25 cm M 21,3 cm	17—32 cm M 25,5 cm

Übersicht 15
(Infektionstermin 26. 7. 50)

	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Blattgröße bei der Infektion	5—11,5 cm M 8,3 cm	5,5—12 cm M 8,3 cm	5—10 cm M 7,2 cm	4,5—10,5 cm M 7,4 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	27—39 cm M 32,7 cm	30—41 cm M 37 cm	16—21 cm M 19 cm	16—23 cm M 18,5 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	38—44 cm M 42,5 cm	38—51 cm M 43,5 cm	21—25 cm M 22,7 cm	17—28 cm M 22,7 cm

	KP	PN	KN
Blattgröße bei der Infektion	5—10,5 cm M 7,2 cm	5,5—11,5 cm M 8,9 cm	4,5—12,5 cm M 8,1 cm
Sproßhöhe bei der Infektion	13,5—20 cm M 18,9 cm	21—28,5 cm M 24,9 cm	12,5—26,5 cm M 17,3 cm
Sproßhöhe bei der Prüfung	16—26 cm M 22,2 cm	28—32 cm M 29,6 cm	12,5—53 cm M 27,1 cm

Spätere Infektionen ergaben noch schlechtere Resultate. Von den am 19. 7. 1950 (Übersicht 14) infizierten Pflanzen waren 7 beimpfte Triebe in größerem Umfange bzw. ganz verseucht, während 23 nur teilweise bis sehr schwach erkrankt waren. Von 116 geprüften nicht beimpften Sprossen erwiesen sich 2 als krank.

Der nächste Termin von 26. 7. (Übersicht 15) erbrachte insofern eine weitere Verschlechterung der Infektionsergebnisse, als nur 2 von den beimpften Trieben ganz und die übrigen, soweit sie überhaupt erkrankten, nur schwach positiv waren. Unter den nicht beimpften Sprossen konnte kein kranker gefunden werden.

Nach diesen Feststellungen erübrigt es sich, auf die späteren Versuche — der letzte Impftermin war der 25. 8. 50 — einzugehen. Es traten keine wesentlichen Unterschiede mehr auf. Zudem wurden die Ergebnisse allmählich dadurch ein wenig unsicher, daß die Pflanzen zu einem Teil abreiften bzw. schon vertrockneten.

Infektionsversuche mit „Erstling-X" verliefen, entsprechend den früheren (4, 5), vollkommen negativ.

Besprechung

Unsere Versuche des Jahres 1949 (4, 5) ließen eine Prüfung der Frage angezeigt erscheinen, ob andere als die bisher benutzten Virus-Herkünfte bei der künstlichen Infektion vielleicht doch die Altersresistenz durchbrechen könnten. Das Ergebnis der hier mitgeteilten Prüfungen entsprach unseren früheren Beobachtungen, indem bei Spätinfektionen der Sorte Flava zwar noch ein Teil der künstlich infizierten Triebe erkrankte, aber die übrigen praktisch gesund blieben. Die einzelnen Virus-Herkünfte verhielten sich etwas verschieden, Jubel-X vermochte sich bei der 2. Impfung im künstlich infizierten Sproß nicht mehr durchzusetzen, dem Virus aus Direktor Johanssen gelang es jedoch, wenn auch nur sehr schwach.

Die Sorte Capella zeigte bezüglich der Altersresistenz ein ähnliches Verhalten. Gegenüber Flava traten bei dieser Sorte aber Unterschiede in ihrer Reaktion gegen die Viren aus Direktor Johannssen und Kaiserkrone auf. Schon bei unseren früheren Untersuchungen war bemerkt worden, daß „Kaiserkrone-X" die Sorte Capella nicht infizierte. Dies führte im Zusammenhang mit dem Verhalten des Erstling-X zu der vorläufigen Annahme, daß in größerem Umfange mit einem unterschiedlichen Infektionsvermögen einzelner Stämme zu rechnen sei. Das vorliegende Ergebnis bestätigt unseren früheren Befund bezüglich Kaiserkrone-X und zeigt gleichzeitig, daß auch das Virus aus Direktor Johanssen wohl die Sorte Flava, aber nicht Capella befallen kann. Diese Feststellung zeigt nochmals die Notwendigkeit, die in Deutschland vorhandenen X-Virus-Herkünfte an einem größeren Kartoffelsortiment zu prüfen. Wir beabsichtigen deshalb, diese Aufgabe in Angriff zu nehmen.

Bevor wir im weiteren die Ergebnisse unserer Versuche auf den Dauerdüngungsparzellen besprechen, erscheint es notwendig, den Einfluß der Ernährung auf den Virusgehalt der Wirtspflanzen kurz zu diskutieren. Dabei

können wir alle die Beobachtungen aus Feldversuchen beiseite lassen, die einen Einfluß auf das Erscheinungsbild ohne Berücksichtigung der tatsächlichen Verseuchung der einzelnen Pflanzen feststellen, weil sie uns keinen exakten Anhaltspunkt für den Virusgehalt der Pflanzen geben. Ich brauche in diesem Zusammenhang nur auf die Tatsache der Virusmaskierung durch reichliche Stickstoffgaben bei der Kartoffel hinzuweisen, die bekanntlich bei der Pflanzgutanerkennung eine Rolle spielen kann. Obgleich Umweltbedingungen wie die Ernährung einen großen Einfluß auf das Wachstum der Pflanzen haben, und auch wohl weitgehend angenommen wird, daß dadurch der Virusgehalt beeinflußt wird, liegen nur verhältnismäßig wenige und z. T. widersprechende experimentelle Untersuchungen vor. Die ersten mir bekannt gewordenen Versuche hat Böning (9) mit Tabakmosaik- an Tabak und „Strichel"-Virus an Tomaten durchgeführt. Er stellte fest, daß Stickstoffmangel die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Virus in der beimpften Pflanze stark behinderte. Weitere Untersuchungen stammen im wesentlichen von Spencer (11—17), der in einer Reihe von Arbeiten die Wirkung von Nährstoffen auf das Tabakmosaik in Tabakpflanzen untersucht hat, und von Bawden u. Kassanis, die im vorigen Jahr in 2 Veröffentlichungen zu diesem Thema Stellung genommen haben (2, 3). Die beiden letzteren Autoren arbeiteten mit Tabakmosaik-, Tomaten-Aucuba-Mosaik-, Kartoffel-X- und Kartoffel-Y-Virus bei *Nicotiana tabacum, Nicotiana glutinosa* und den Kartoffelsorten Majestic und Doon Star.

Spencer hat aus seinen Versuchen geschlossen, daß die Anfälligkeit der Wirtspflanze wie auch die Vermehrung des Virus durch die Ernährung spezifisch beeinflußt werden. So soll N-Zufuhr beide Prozesse fördern und zwar auch noch bei hohen, das Pflanzenwachstum schon hemmenden Gaben. Phosphor-Düngung soll Wachstum und Anfälligkeit in gleicher Weise beeinflussen, während Kali-Düngung nach seiner Auffassung eine maximale Anfälligkeit schon bei sehr schwachen Gaben bewirkt, die noch keineswegs das Maximum für das Wachstum darstellen.

Bawden und Kassanis hatten z. T. andere Ergebnisse. Hinsichtlich der Anfälligkeit kamen sie zu dem Schluß, daß im allgemeinen die für das Wachstum günstigsten Ernährungsbedingungen auch die Anfälligkeit steigern und anscheinend kein Element spezifisch wirkt. Sie vertreten die Ansicht, daß nicht nur für das Pflanzenwachstum das Gleichgewicht zwischen verschiedenen Nährstoffen wichtig ist und die Wirkung einer bestimmten Menge eines Nährstoffes stark von der Verfügbarkeit der anderen abhängt, sondern daß das in gleicher Weise für die Anfälligkeit gegenüber den Viren gilt. Versuche der beiden Autoren mit Tabakmosaikvirus ergaben weiterhin bezüglich des Virusgehaltes der Pflanzen die deutlichste Wirkung bei einer Düngung mit Phosphor, der sowohl das Wachstum als auch die Viruskonzentration im Preßsaft und damit auch den Gesamtvirusgehalt der Pflanzen erhöhte. Stickstoff hatte eine viel kleinere Wirkung, er steigerte Wachstum und Viruskonzentration nur in Gegenwart von Phosphor. Es gilt hier dasselbe wie bei der Virus-Anfälligkeit, daß die Beeinflussung mit dem Pflan-

zenwachstum parallel geht. Diese Übereinstimmung traf aber nicht für das Kalium zu, das eine positive Wirkung auf das Wachstum und eine schwach negative auf die Viruskonzentration hatte.

Zur Erklärung dieser von den Angaben Spencers z. T. abweichenden Ergebnisse wiesen Bawden und Kassanis darauf hin, daß einerseits die von Spencer zur quantitativen Bestimmung des Virusgehaltes benutzte Auszählung der Lokalläsionen keine einwandfreien Resultate liefert, daß aber andererseits Unterschiede auch in der verschiedenen Versuchsmethodik und einem unterschiedlichen Verhalten der benutzten Virusstämme begründet sein können.

Versuche mit dem Kartoffel-X-Virus bei Kartoffeln ergaben keine klare Wirkung auf die Viruskonzentration, sondern nur eine Gesamtvirusvermehrung in systemisch infizierten Pflanzen unter Bedingungen, die auch die Pflanzengröße steigerten. Zu diesem Befund sagen die Autoren selbst, daß unter anderen Bedingungen und bei anderen Pflanzen die mineralische Ernährung vielleicht eine größere Wirkung auf die Konzentration des X-Virus haben mag.

Überschaut man das zur Zeit vorliegende experimentelle Material, so scheinen die gesicherten Ergebnisse darauf hinzuweisen, daß Virus-Anfälligkeit und -Gehalt durch die Ernährung in der Weise beeinflußt werden, daß eine gut ernährte Pflanze verhältnismäßig anfällig ist und einen höheren Virusgehalt besitzt als eine durch Ernährungsstörungen gehemmte Pflanze.

Diese Abhängigkeit zeigte sich offenbar auch bei unseren Versuchen. Die Verseuchung durch das X-Virus war selbst bei den Frühinfektionen verhältnismäßig schwach. Bei der Sorte Flava erkrankten nach dem 1. Impftermin 56% der nicht beimpften Triebe und nach dem 2. Termin (eine Woche später) 31%. Wie schon im experimentellen Teil betont, war diesbezüglich zwischen den einzelnen Parzellen kein deutlicher Unterschied festzustellen, lediglich die Pflanzen der Parzelle 2 zeigten eine stärkere Durchdringung des X-Virus. Ein Vergleich mit unseren früheren Versuchen (7) bei normal gedüngten Kartoffelpflanzen ergibt, daß letztere in weit stärkerem Maße vom X-Virus befallen wurden. Daß dieser Unterschied nicht durch andere Faktoren — etwa das verschiedene Klima der Jahre 1949 und 1950 — verursacht worden ist, sondern tatsächlich auf der Düngung beruht, zeigen Versuche in anderem Zusammenhang, die im experimentellen Teil nicht aufgeführt worden sind. Sie wurden mit Flava und Capella auf für Kartoffeln normal gedüngtem Boden durchgeführt und ergaben wiederum eine weitgehende Virus-Verseuchung.

Bei der Beurteilung der Infektionsversuche auf den Dauerdüngungsparzellen ist zu berücksichtigen, daß der Boden dieser Parzellen aus Sand geringer Güte (Bodenwertzahl etwa 28) besteht. Es ist selbstverständlich, daß eine solche seit 27 Jahren nur mit mineralischem Dünger versorgte Anlage selbst auf der sogenannten Volldüngungsparzelle keine normale Ernährung der Kartoffel gewährleistet. Aus diesem Grunde blieb die Ausbreitung des Virus verhältnismäßig schwach. Wir können also in gewisser Übereinstimmung mit der Literatur nochmals feststellen, daß eine schlecht ernährte Pflanze in gerin-

gerem Maße erkrankt als eine normal ernährte. Es erscheint mir notwendig, diese Tatsache besonders hervorzuheben, weil in Deutschland die ökologische Abbauhypothese soviel Verwirrung angestiftet hat und von ihren Vertretern immer wieder einseitig ein schlechter Zustand des Bodens für den Abbau verantwortlich gemacht wird.

Offenbar ist es für die Disposition der Pflanzen von untergeordneter Bedeutung, welche Ernährungsstörungen das Pflanzenwachstum hemmen.

Die teilweise stärkere Verseuchung der Parzellen 1 und 2 erklärt sich wohl daraus, daß sie augenscheinlich noch die besten Ernährungsbedingungen für die Kartoffel boten, wie die in der Tabelle aufgeführten prozentualen Ernteerträge ausweisen.

Prozentuale Knollenerträge (bezogen auf die Werte der 2. Parzelle)

Parzelle	KPN + Kalk	KPN	ungedüngt	ungedüngt + Kalk
Capella	89	100	40	20
Flava	84	100	46	23

Parzelle	KP	PN	KN
Capella	23	40	34
Flava	22	40	36

Sie liegen für Capella und Flava weitgehend parallel. Vom pflanzenbaulichen Standpunkt sind die sehr unterschiedlichen Zahlen vielleicht von Interesse, bei denen besonders auffällt, daß die Parzelle 3 (ungedüngt) mit einem ph-Wert von 4,6 gegenüber der Parzelle 4 (ungedüngt + Kalk) mit einem ph-Wert von 7,7 doppelt so hohe Erträge brachte. Die ph-Werte sind durch Bestimmungen des Jahres 1949 mit ähnlichen Zahlen (4, 5 bzw. 7,4) gesichert.

Die Wirkung der Altersresistenz summiert sich in den vorliegenden Versuchen mit dem Einfluß der mangelhaften Ernährung, und so kommt es, daß sie frühzeitig in Erscheinung tritt. Bei der Sorte Capella ist sie 14 Tage nach dem ersten Infektionstermin bereits so deutlich, daß nur noch 4% der nicht beimpften Triebe erkranken, während ein ähnlicher Zustand bei Flava nach 3 Wochen erreicht wird.

Schon bei früherer Gelegenheit (4, 5) habe ich darauf hingewiesen, daß die Altersresistenz nicht allein durch einen Wachstumsstillstand der Pflanze erklärt werden kann. Die in den Übersichten angegebenen Zahlen für die Größe der beimpften Triebe bei der Infektion und der Prüfung zeigen das nochmals ganz eindeutig.

In den Versuchen des Jahres 1949 hatten wir z. T. ältere Blätter für die Infektion benutzt, und es bestand die Möglichkeit, daß diese schon mehr oder weniger ausgewachsenen Blätter sich anders verhielten als jüngere. Zwar

konnten die damaligen Ergebnisse dadurch nicht wesentlich beeinflußt werden, weil daneben in allen Fällen auch immer jüngere Blätter beimpft worden waren. In den vorliegenden Untersuchungen haben wir, um ganz sicher zu gehen, nur jüngere Blätter beimpft, wie ich schon im experimentellen Teil betont habe.

Sucht man nach einer Erklärung für die Resistenz, so ist es naheliegend, sie mit dem Eiweißstoffwechsel in Verbindung zu bringen. Bekanntlich darf man sich letzteren als ein dynamisches Geschehen vorstellen, bei dem Auf- bzw. Abbau in den verschiedenen Entwicklungsstadien überwiegt. Der Eiweißspiegel wird nach dieser Auffassung bei einer mehr oder weniger ausgewachsenen Pflanze dadurch gehalten, daß Auf- und Abbau nur sehr schwach sind und sich gegenseitig die Waage halten. Diese Vorstellung vermag u. U. die Tatsache zu erklären, daß bei ausgewachsenen Pflanzen die Virusinfektionen im allgemeinen nicht mehr angehen jedoch gelegentlich eine örtliche Vermehrung vorkommt. Sie gibt aber vorläufig keine Deutungsmöglichkeit dafür, daß sich die Resistenz schon vor dem Erreichen dieses Entwicklungszustandes bemerkbar macht, es sei denn, daß das Virus zwar in älteren Pflanzen vorhanden ist, aber nur in einer so geringen Konzentration, daß die von uns benutzte Methode für den Nachweis nicht ausreicht. Einen Anhaltspunkt in dieser Richtung gibt vielleicht das Ergebnis der Nachbauprüfungen primär-infizierter Kartoffelpflanzen (6), bei denen wir unter bestimmten Voraussetzungen in der Knolle bis zu einem gewissen schwachen Grade eine Verseuchung beobachteten, obgleich die Laubprüfungen der Mutterpflanzen negativ verlaufen waren. Der Klärung dieser Frage sollen weitere Versuche dienen.

Zusammenfassung

1. Infektionsversuche mit X-Virus-Herkünften aus mehreren Kartoffelsorten an den Sorten Flava und Capella ließen, wie in früheren Untersuchungen mit anderen Virusstämmen, eine Altersresistenz erkennen.
2. In weiterer Ergänzung früherer Befunde zeigte sich, daß die beiden Kartoffelsorten auf Früh-Infektionen in verschiedener Weise reagieren. Es steht nunmehr fest, daß Flava u. a. von den X-Viren aus Erstling, Direktor Johanssen und Kaiserkrone befallen werden kann. Capella dagegen nicht.
3. Bei Infektionsversuchen auf Dauerdüngungsparzellen wurde beobachtet, daß die Virusverseuchung vom Ernährungszustand der Pflanzen abhängt, indem schlecht ernährte Pflanzen nicht im gleichen Maße befallen werden wie normal ernährte.
4. Die Wirkung einer nicht ausreichenden Ernährung summiert sich mit der Altersresistenz, so daß letztere sich schon früher bemerkbar macht.
5. Die mögliche Ursache der Altersresistenz wird kurz diskutiert.

Literatur

1. Bawden, F. C., Plant viruses and virus diseases. 3. Aufl. Waltham (U. S. A.), 1950.
2. Bawden, F. C. and Kassanis, B., Some effects of host nutrition on the susceptibility of plants to infection by certain viruses. Ann. appl. Biol. 37, 46—57, 1950.
3. — — and — —, Some effects of host-plant nutrition on the multiplication of viruses. Ann. appl. Biol. 37, 215—228, 1950.
4. Bercks, R., Über das Verhalten verschiedener X-Virusherkünfte bei Infektionsversuchen an mehreren Kartoffelsorten. Nachrichtenbl. Biol. Zentralanstalt Braunschweig 1, 171—173, 1949.
5. — —, Infektionsversuche mit verschiedenen X-Virusherkünften an mehreren Kartoffelsorten. Der Züchter 20, 282—287, 1950.
6. — —, Über die X-Virusverseuchung des Nachbaues von primärinfizierten Kartoffelpflanzen. Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) 2, 147—149, 1950.
7. — —, Fortgeführte serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffelpflanzen. Phytopathologische Zeitschr. 16, 491—507, 1950.
8. — —, Infektionsversuche mit dem X-Virus an Kartoffelpflanzen. Mitt. Biol. Zentralanstalt f. Land- u. Forstwirtschaft Berlin-Dahlem, Heft 70, 61—64, Februar 1951.
9. Böning, K., Beiträge zum Studium der Infektionsvorgänge pflanzlicher Viruskrankheiten. I. Mitteilung. Zeitschr. f. Parasitenkunde 1, 198—230, 1929.
10. Köhler, E., Die Bedeutung der Insekten für den Kartoffelabbau. Mitt. Biol. Reichsanstalt Nr. 58, 29—36, Sept. 1938.
11. Spencer, E. L., Effect of nitrogen supply on host susceptibility to virus infection. Phytopathology 25, 178—191, 1935.
12. — —, Influence of phosphorus and potassium supply on host susceptibility to Yellow tobacco mosaic infection. Phytopathology 25, 493—502, 1935.
13. — —, Influence of host nutrition on systemic development of tobacco mosaic. Plant Physiology 12, 825—832, 1937.
14. — —, The effect of host nutrition on concentration of tobacco-mosaic virus. Plant Physiology 14, 769—782, 1939.
15. — —, Inhibition of increase and activity of tobacco-mosaic virus under nitrogen-deficient conditions. Plant Physiology 16, 227—239, 1941.
16. — —, Influence of nitrogen supply on the rate of multiplication of tobacco-mosaic virus. Plant Physiology 16, 663—675, 1941.
17. — —, Specific biological activity of tobacco-mosaic virus as influenced by age of lesion and nitrogen supply. Plant Physiology 17, 210—222, 1942.
18. Stapp, C. und Bercks, R., Über weitere Antrocknungsversuche mit Seren gegen Kartoffelviren. Phytopath. Ztschr. 15, 47—53, 1948/49.
19. Stapp, C. und Marcus, O., Beiträge zur weiteren Vereinfachung der serologischen Virusdiagnose. Zentralbl. f. Bakt. II. Abtlg. 106, 465—471, 1944.

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Voldagsen

Herrn Prof. Dr. W. RUDORF zum 60. Geburtstag gewidmet

Über die Schorfanfälligkeit von Birnen und die Aussichten auf ihre Resistenzzüchtung

Von

E. SIEBS

Mit 8 Abbildungen

Birnschorf im Obstbau

Die vor dem Kriege in Deutschland in großem Umfang durchgeführte Schorfforschung am Kernobst und — großenteils noch nicht abgeschlossene — Resistenzzüchtung des Apfels gegen Schorf hat durch den Krieg eine Unterbrechung erfahren. Die Birnschorfforschung speziell ist über die wertvollen Untersuchungen HERBSTS (HERBST 1936, 1937, 1941, HERBST und RUDLOFF 1936) nicht hinausgekommen; und die Resistenzzüchtung der Birne gegen Schorf ist in Deutschland noch gar nicht systematisch betrieben worden. Erfordert die Schorfforschung am Kernobst schon aus wissenschaftlichen Gründen die Klärung der betreffenden Verhältnisse auch bei der Birne, so hat die Obstbaupraxis, offenbar wegen ähnlich schwerer Wuchs- und Ertragsschäden wie beim Apfel, wiederholt die Züchtung wirklich schorffester Tafelbirnen gewünscht. Über das allgemein bekannte Schorfkrankheitsbild der Birne, das bei empfänglichen Sorten schon im mittleren Alter schließlich in Grind gipfeln kann, sowie über die die Betriebswirtschaft und den Ertragswert alljährlich belastenden Spritzmaßnahmen und -kosten hinaus liegen jedoch für die Birne keine zuverlässigen Angaben über die durch Schorf hervorgerufene Ertragsminderung nach Qualität und Quantität der Früchte und nach Verlust ganzer Bäume vor. Acht deswegen befragte bekannte Obstbau-Institute konnten hierüber keine Auskunft geben. Nach HERBSTS Angaben (1941) beträgt der durch die beiden Venturien dem deutschen Kernobstbau erwachsende Schaden im Jahresdurchschnitt ein Vielfaches von 10 Mill. RM. „Allein die deutsche Apfelernte wird im Mittel jährlich um etwa 40 Mill. RM gemindert: 10—30% der Ernte werden je nach der mittleren Befallsintensität in den einzelnen Jahren durch qualitative oder quantitative Minderung der Früchte vernichtet." Diese Angaben beziehen sich auf Äpfel, d. h. auf einen großen deutschen Sortenkreis des Kernobsts, in dem nach M. SCHMIDTS Angaben (Handbuch der Pflanzenzüchtung V), keine wirklich schorffeste Sorte vorhanden

ist. Bei Birnen wird man nun deshalb nicht ganz die gleichen Verhältnisse der Ertragsdepression durch Schorf annehmen dürfen, weil es hier, nach sicheren Beobachtungen aus der Praxis, immerhin einige kaum anfällige bis resistente Sorten gibt. — In der neuen Zusammenstellung, wirtschaftlichen Kennzeichnung und Bewertung von 80 in Deutschland verbreiteten Birnensorten nach Koloc (1948) sind nur 9 Sorten = 11% als ± schorffest bezeichnet:

Wildling von Einsiedel
Bunte Julibirne
Champagner Bratbirne
Conférence
Gräfin von Paris
Julidechantsbirne
Oberösterreichische Weinbirne
Frühe von Trévoux
Triumph von Vienne

gegenüber 30 schorfanfälligen.

Die weiteren 41 Sorten sind in dieser Eigenschaft unsicher oder nicht genügend bekannt, müßten also noch geprüft werden. — Auch das 84 Sorten umfassende Birnensortiment in „Deutschlands Obstsorten" enthält nur 22 = 26% schorffreie Sorten gegenüber 62 = 74% schorfanfälligen und fraglichen. Hier werden u. a. folgende ± schorffeste Sorten genannt:

Dr. Jules Guyot
Williams Christ
Clairgeaus Butterbirne
Esperens Bergamotte
Gräfin von Paris
Vereinsdechantsbirne
Clapps Liebling
Stuttgarter Gaishirtle
Andenken a. d. Kongreß
Neue Poiteau
Hofratsbirne
Triumph von Vienne

Crane und Lewis (1949) haben in ihren genetischen Studien an Birnen den Schorfbefall mitberücksichtigt und dabei festgestellt, daß von 935 Sämlingen aus 17 Nachkommenschaften 20 Sämlinge = 2% schorffrei geblieben waren. Diese entstammten Kreuzungen, worin ein oder beide Eltern die Sorten Conférence oder Beurré Giffard waren. Der in dem dortigen Birnenanbaugebiet verbreitetsten Sorte Conférence wird schon lange Schorfresistenz nachgesagt, wogegen die weniger angebaute Beurré Giffard in dieser Eigenschaft noch nicht bekannt ist. Jedenfalls wurde für beide Sorten die Vererbung „hoher resistenzspendender Fähigkeit" auf ihre Nachkommenschaften festgestellt. —

Die Auswahl an genügend schorfwiderstandsfähigen Birnensorten ist, den vorgestellten Anmerkungen zufolge, aber doch noch so gering, daß sich sogar ohne die Kenntnis der durch Schorf verursachten Qualitäts- und Ertragsminderung das Spritzen, für die Zukunft aber besser noch die systematische Resistenzzüchtung lohnt. Der 1949 in Nordwest-, West- und Süddeutschland plötzlich allgemein stark aufgetretene Birnschorf wird manchem Besitzer nicht gespritzter Birnenanlagen gewiß Gelegenheit zu Verlustrechnungen gegeben haben. — Diese ganzen Feststellungen sind auch insofern wichtig, als die Schorfbeobachtungen im Kleinbetrieb zu schweren Trugschlüssen über die Stärke der Krankheit schlechthin führen können, wie das beispielsweise aus Tabelle 1 über 4jährige Beobachtungen an 23, nur im Winter und nicht einmal direkt gegen Schorf gespritzten Halb- und Hoch-

stämmen von 20 Birnensorten*) auf einer hiesigen Obstwiese möglich ist. Während dieser Zeitspanne sind 6 Bäume = 26% befallsfrei geblieben oder nur sehr unbedeutend befallen worden. Diesen stehen nur 9 = 39% stark bis sehr stark befallene Bäume gegenüber, während der Rest nur schwach befallen ist. Bei dem allgemein befallsgünstigen hiesigen Klima könnte man also an Hand dieser Beobachtungen die Krankheit an sich für nicht besonders schwerwiegend halten, vielleicht auch dann noch, als 1949 des Schorfbefalls wegen die Fruchternte von Nr. I, II, IV, VI und VI a (Speise- und Tafelsorten) nicht marktfähig, die von Nr. XV um etwa 35% gemindert war, und die Ernte von Nr. V mit völlig verkrüppelten Früchten sich gar nicht lohnte. Daß jedoch das Ausmaß der Schorfschäden den Vermutungen aus dem hiesigen Ortsklima heraus vollauf entspricht, zeigen schorfbeimpfte Birnensämlinge (Nachkommen aus einem Teil dieser Sorten, s. S. 280) hinreichend.

Tabelle 1

Vierjährige Schorfbeobachtungen an 23 Bäumen (20 Sorten) auf einer Obstwiese in Voldagsen

Abkürzungen: H = Hochstamm, h = Halbstamm, Bl. = Blatt, Fr. = Frucht, Nr. a = gleiche Sorte.

Bewertung: 0 = befallsfrei, 5 = sehr stark befallen, — = entfällt

Sorten-Nr.	1946		1947		1948		1949	
	25. VIII.		25. VIII.		18. VIII.		25. VII.	
	Bl.	Fr.	Bl.	Fr.	Bl.	Fr.	Bl.	Fr.
H I	1	2	3	3	3	3	5	5
H II	1	2	2	3	2	4	4	4
H III	0	0	0	0	0	1	2	0
h IV	0	0	0	1	0	0	3	5
h V	0	2	0	0	0	2	4	5
H VI	0	1	0	1	0	2	4	5
H VIa	0	1	0	2	1	3	4	5
H VII	0	1	0	0	0	0	0	0
h VIII	0	0	0	1	0	0	1	1
h IX	1	0	0	1	0	2	1	0
h X	0	0	0	1	0	—	2	0
h XI	0	1	0	0	0	1	0	0
h XII	1	2	0	3	0	—	tot	
h XIII	0	0	0	0	0	0	0	1
h XIIIa	0	0	0	0	0	1	0	0
H XIV	0	0	1	1	0	2	1	1
H XV	1	1	1	2	0	3	1	5
H XVI	0	0	0	0	0	—	1	0
h XVII	0	2	0	1	0	1	3	4
h XVIII	0	1	0	0	1	2	3	4
H XIX	0	0	0	1	1	2	2	2
H XIXa	0	2	0	1	0	2	2	2
H XX	1	1	1	2	0	3	0	1
Spritzungen	—		Winter-Spr. 6%ig. Karbol. emulg.		Winter-Spr. 6%ig. Karbol. emlug.		Winter-Spr. 5% Schweröl	

*) In Ermangelung eines 1946 noch nicht vorhandenen Birnensortiments mußten die Untersuchungen an wenigen, herkunftsmäßig größtenteils unbekannten 15- bis 25jährigen Birnensorten aus der unmittelbaren Nachbarschaft des Instituts begonnen werden. Bis zur sicheren Sortenbestimmung durch Vergleich mit einem inzwischen aufgepflanzten Birnensortiment werden die Versuchsbäume durch Nummern gekennzeichnet.

Versuchsmethodik und Versuche

Die nachstehende Abhandlung betrifft hauptsächlich allgemein orientierende Infektionsversuche. Mykologische, ätiologische und züchterische Untersuchungen sind weiteren Arbeiten vorbehalten. Der hier vorwiegend interessierenden Frage nach der Resistenz von Sorten wurde experimentell nachgegangen, indem Schorfkonidien von kranken Bäumen auf gesunde in der Weise übertragen wurden, daß Blattschorfsporen, außer auf gesunde Blätter, auch auf gesunde Früchte, sowie ihrerseits Fruchtschorfsporen, außer auf gesunde Früchte, auch auf gesunde Blätter übergeimpft wurden, denn es ist ja denkbar, daß etliche Schorfbiotypen neben ihren bürtigen Wirtsorganen auch andere befallen können. —

Allen Infektionsversuchen im Freiland und in Frühbeeten liegt im wesentlichen die gleiche Versuchsmethodik zugrunde. Nachdem in Tastversuchen verschiedene Einsporkulturen von *Fusicladium pirinum* als Impfmaterial außerordentlich heterozygote Birnensämlinge viel unsicherer infiziert hatten als Sporenpopulationen von natürlichem Schorfbefall, wurden letztere für die Impfung verwendet. Auf diese Weise werden die verschieden reagierenden Sämlinge zugunsten ihrer Infektion gleichzeitig von mehreren Biotypen getroffen. Erst nach genügender Auslese resistenter Typen und Sorten hat deren Prüfung mit einzelnen, besonders virulenten Schorfstämmen einen Sinn. — Es wurden frischbefallene schorffleckige Blätter und Früchte (letztere zweckentsprechend geschält) von typisch kranken Bäumen getrennt in 2 Glaskolben gesammelt und etwa 20 Minuten jeweils in einer 0,25%igen gelösten Agar (zwecks besseren Haftens auf dem Wirt) enthaltenden 1,5%igen Rohrzuckerlösung (zwecks Keimungsanregung der Sporen) ausgeschüttelt. Diese Impflösungen wurden unmittelbar nach ihrer Zubereitung getrennt aus Glasspritzen (nach Stapp u. a.) für den Versuch versprüht. Agarhaltige Konidiensuspensionen ohne Rohrzucker standen zuckerhaltigen im Infektionsgrad allerdings nur wenig nach. Die beimpften Zonen von Bäumen wurden 4 volle Tage durch Pergamintüten geschützt; entsprechend wurden die in Frühbeetkästen befindlichen beimpften diesjährigen Sämlinge 4 Tage lang mit Beetfenstern und Strohmatten darüber bedeckt und nach außen abgedichtet. Versuche an aufgeschulten 1- und 2jährigen Sämlingen hatten ergeben, daß bei günstigen Wetterverhältnissen auf längere Sicht der sporenhaltige Zuckeragarfilm auf den Blättern solide genug haftet, um das Eintüten der Impfzonen zu erübrigen. —

Wie aus den Ergebnissen (Tabelle 2) zweier solcher Überimpfungs- und Kreuzüberimpfungsversuche an jeweils 5 ziemlich gesunden Bäumen aus Tabelle 1 hervorgeht, sind die Infektionen großenteils auffallend gering. Im Versuchsjahr 1948 ist die künstliche Infektion an den Sorten III, VIII und XIII etwas stärker als die natürliche; 1949 haben außer Nr. XIII alle Sorten auf die künstliche Infektion etwas stärker als auf die natürliche angesprochen; von den in diesem Jahr wiederbeimpften Bäumen ist nur Nr. XIIIa an den Früchten etwas stärker befallen als im Vorjahre. — In Bewertung der organmäßigen Sporenherkünfte für die Infektion sind Blattschorf und Fruchtschorf

auf Früchten besser angegangen als auf Blättern, und zwar sind die Infektionen durch Blattschorf dabei etwas häufiger als die durch Fruchtschorf. Demnach ließen sich umgekehrt die Blätter als schorfresistenter betrachten als die Früchte. Diese aus Tabelle 2 sich ergebende Annahme wird von den Ergebnissen aus der Tabelle 1 unterstützt, denen zufolge die Früchte wesentlich häufiger und dort, wo zugleich Blattschorf an den Bäumen auftritt, vielfach auch stärker befallen sind als die Blätter. Das bedeutet also: Eine schorfanfällige Birnensorte trägt weitaus häufiger gesunde Blätter und kranke Früchte als umgekehrt. Diese Feststellung erschwert die Schorfresistenzzüchtung ziemlich insofern, als die Fruchteigenschaften naturgemäß erst spät (durchschnittlich vom 8.—10. Lebensjahr) erkennbar werden, so daß ein blattschorffester Sämling durch späteren Fruchtschorfbefall schwer enttäuschen kann. Das ist also hier der Grund, weshalb die Schorfresistenzzüchtung der Birne mindestens für einen Elter mit einer absolut gesunden Sorte begonnen werden sollte.

Tabelle 2

Überimpfungen und Kreuzüberimpfungen

Jeweils 2 Impfungen pro Baum	Infektionsergebnisse			
	Blattschorf auf:		Fruchtschorf auf:	
vom 19. VIII. bis 17.IX.48 Spender Nr. I und II	Blätter zwei obere Zweigdrittel Bewertung	Früchte Anzahl × Bewertung	Blätter zwei obere Zweigdrittel Bewertung	Früchte Anzahl × Bewertung
Empfänger Nr. III	0	4 × 0	0	4 × 0
	3	1 × 2	0	
Nr. VII	0	3 × 0	0	4 × 0
	0	1 × 1	0	
Nr. VIII ...	0	2 × 0	0	1 × 0
	1	4 × 2	2	1 × 1
				1 × 2
Nr. XIII ...	0	5 × 0	0	2 × 0
	0	1 × 1	0	2 × 1
				1 × 2
Nr. XIIIa ..	1	5 × 0	0	4 × 0
	0		0	
vom 26. VII. bis 28. IX. 49 Spender Nr. V				
Empfänger Nr. VII	0	4 × 0	0	2 × 0
	0	1 × 1	0	1 × 1
		1 × 2		2 × 2
Nr. IX.....	1	—	0	—
	3		2	
Nr. XI.....	1	1 × 0	2	1 × 0
	2	1 × 2	2	2 × 2
		3 × 3		
Nr. XIII ...	0	3 × 0	0	4 × 0
	0	2 × 1	0	1 × 2
		1 × 2		
Nr. XIIIa ..	0	2 × 0	0	2 × 0
	0	1 × 1	0	1 × 1
		2 × 2		2 × 3
		1 × 3		

Die Kreuzüberimpfungsergebnisse stimmen mit den Befunden von Herbst (1936) überein, welcher feststellte, „daß zwar in manchen Fällen die Zusammensetzung der Populationen auf Blättern und Früchten bei einem und demselben Wirt verschieden sein kann, daß aber im allgemeinen die Typen von den Blättern auch auf Früchten vorkommen können und umgekehrt". In diesem Zusammenhang sind nun mikroskopische Blatt- und Fruchtschorfproben bemerkenswert (von Nr. I und II auf Nr. VIII und von Nr. V auf Nr. XI). In den Blattschorfpopulationen, weniger in den Fruchtschorfpopulationen, der beiden Spender Nr. I und V ließen sich im wesent-

Abb. 1. Vorherrschender Konidientyp innerhalb der Blattschorfpopulation vom Schorfspender Sorte Nr. V. Vergr. 200fach

Abb. 2. mit dazugehörigen Trägern. Vergr. 200fach

Abb. 3. Vorherrschender Konidientyp nach Überimpfung der Blattschorfpopulation v. Sorte Nr. V auf Früchte v. Sorte Nr. XI. Vergr. 200fach

lichen zwei Morphotypen unterscheiden: Es herrschen schmale, schlanke Konidien (± 28,05×9,00 μ) auf kurzen Trägern vor, von denen wenige kürzere und breitere Konidien (⌀ 21,80×10,20 μ) auf fast doppelt so langen Trägern abstechen. Nach Überimpfung solcher Blattschorfpopulationen auf Früchte der genannten Empfänger war das Morphotypenverhältnis hier ziemlich umgekehrt. Auf dem andersartigen Wirtsnährboden hat sich der kürzere Konidientyp gleichsam auf Kosten des längeren durchgesetzt (Abb. 1 bis 4). Ein ähnlich auffallender Typenwechsel der Fruchtschorfpopulationen auf Blättern wurde noch nicht gefunden. Es kann also nach Herbsts und den vorliegenden Befunden hinsichtlich der Schorfrassen kein klarer Unterschied zwischen Blattschorf und Fruchtschorf gemacht werden, wohl aber, den obigen Feststellungen gemäß, zwischen der Anfälligkeit der Blätter und der Früchte. Selbstverständlich soll damit nicht bestritten werden, daß es

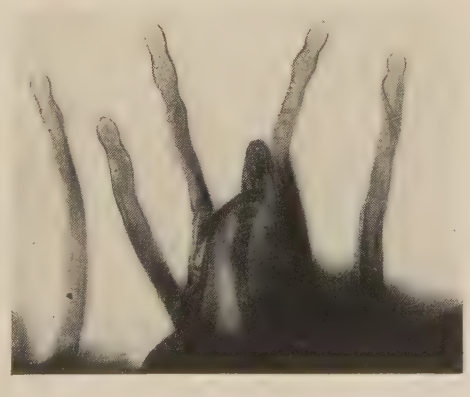


Abb. 4. mit dazugehörigen Trägern. Vergr. 200fach

einige blattspezifische und fruchtspezifische physiologische Rassen geben mag. —

Die vorstehend betrachteten Resistenzverhältnisse der in hiesiger unmittelbarer Umgebung verfügbaren Birnensorten waren bei der Auswahl geeigneter Mutterbäume zur Anzucht von Nachkommenschaften zu Beginn der Arbeit 1946 noch nicht bekannt, so daß, gestützt auf die nur 1jährigen Schorfbeobachtungen, auch Nachkommenschaften von in den folgenden Jahren als anfällig erkannten Sorten angezogen wurden. Der Befallsprüfung der Sämlinge hatte eine Klärung der Bedeutung der seit Aderhold, Wiesmann u. a. morphologisch, ontogenetisch und ökologisch weitgehend bekannten Ascosporen für die Infektion vorauszugehen. Herbst (1937) hat an Hand vieler geographisch verteilter Formenkonkordanzen und -diskordanzen die Fernverbreitung der Ascosporen als häufig südöstliche Sporendrift nachgewiesen und damit ihre ökologische Bedeutung herausgestellt. Herbst (1941) hat außerdem nach Untersuchungen über Apfelschorf und Birnschorf im Rheingau betont, daß der Befallsmodus unterschiedlich ist, je nachdem ob Zweiggrindkonidien- oder aber Ascosporeninfektion vorliegt. Einen Vergleich über die Infektionsbereitschaft und den Infektionswert zwischen Ascosporen und Konidien hat Herbst dabei jedoch nicht vorgebracht. Das soll daher hier zunächst geschehen. —

Anfang Mai 1947 wurden aus Blattperithecien isolierte Ascosporen, sowie aus Röhrenmischkulturen stammende Konidien des Birnschorfs getrennt in Tropfen von a) Pulst-Nährlösung und b) Birnsaft-Salzlösung (beide Nährlösungen nach Rudloff 1935) auf Objektträgern unter Deckglas kultiviert. Die Kulturen (2 je Objektträger) wurden in feuchter Kammer in Zimmertemperatur gehalten und täglich mikroskopisch kontrolliert. Wie aus Tabelle 3 a und b hervorgeht, sind die Konidien in beiden Nährlösungen schneller gekeimt als die Ascosporen. In der Birnsaft-Salzlösung, die von beiden Nährlösungen für diesen Zweck allgemein die günstigere ist, ist der Unterschied

Tabelle 3

a) Sporenkeimung in Pulst-Nährlösung vom 5.—19. Mai 1947			b) Sporenkeimung in Birnsaft-Salzlösung vom 5.—19. Mai 1947		
Tage	75 = Ascosporen-Anzahl	93 = Konidien-Anzahl	Tage	81 = Ascosporen-Anzahl	79 = Konidien-Anzahl
0	davon gekeimt	davon gekeimt	0	davon gekeimt	davon gekeimt
1.	= 0 = 0%	= 9 = 10%	1.	= 1 = 1%	= 11 = 14%
2.	= 3 = 4%	= 14 = 15%	2.	= 7 = 9%	= 21 = 27%
4.	= 13 = 17%	= 29 = 31%	4.	= 20 = 25%	= 35 = 43%
7.	= 22 = 29%	= 50 = 54%	7.	= 37 = 46%	= 53 = 67%
10.	= 42 = 56%	= 82 = 88%	10.	= 54 = 67%	= 78 = 99%
12.	= 50 = 67%	= 90 = 97%	12.	= 63 = 78%	
14.	= 54 = 72%	= 90 = 97%	14.	= 65 = 80%	

besonders deutlich, denn dort sind die Konidien nach 11 Tagen bereits zu 100 %, die Ascosporen hingegen erst zu 74 % gekeimt. —

Zur Prüfung des Einflusses niedriger Temperaturen auf die Konidienkeimung und Perithezienreife ist diesem Versuch ein im Februar 1947 angestellter Versuch vorausgegangen. Konidien aus Röhrchenmischkulturen in Tropfen von Pulst-Nährlösung auf Objektträgern unter Deckglas wurden zu einem Teil im Brutschrank bei + 17° C kultiviert, zum anderen sogleich für 4 Tage Freilandtemperaturen von — 9° bis — 13° C ausgesetzt und danach gleichfalls bei + 17° C konstant gehalten. Die Tabelle 4 a zeigt, daß die niedrigen Temperaturen die Keimfähigkeit der Konidien ziemlich beeinträchtigt haben, denn nach 14 Tagen sind von den kältebehandelten Konidien erst 44 % gegenüber 94 % bei den unbehandelten gekeimt, und nach 21 Tagen ist das Keimprozent der kältebehandelten Konidien nur unbedeutend gestiegen, wogegen die unbehandelten jetzt fast alle gekeimt sind. — Wegen des Fehlens von Ascosporen in dieser Versuchszeit (Februar, März) konnten diese in dem Versuch nicht mit den Konidien verglichen werden. Statt dessen wurde die Kältewirkung auf die Ausreifung von Blattperithezien nach der soeben beschriebenen Versuchsmethode untersucht. Die freipräparierten Perithezien befanden sich allerdings nicht in Nährlösung, sondern in Tröpfchen von Leitungswasser, das jeden zweiten Tag nachpipettiert wurde. Die Tabelle 4 b veranschaulicht einigermaßen deutlich, daß die niedrigen Temperaturen die Ausreifung der Perithezien im Vergleich zu den unbehandelten bis zum 29. Versuchstag um 7 Tage verzögert, danach jedoch derartig beschleunigt hatten, daß nach 42 Tagen nahezu alle Perithezien geplatzt waren, während zu dieser Zeit erst 77 % der dauernd in Zimmertemperatur gehaltenen Sporenfrüchte ihre Sporen entlassen hatten. Vergleicht man in Tabelle 4 a und b die vorübergehend tiefen Temperaturen ausgesetzten Konidien und

Tabelle 4

a) Konidienkeimung vom 22. Februar bis 15. März 1947		
	In Pulstlösung bis + 17° C konst.	In Pulstlösung für 4 Tage — 9 bis — 13° C danach bei + 17° C konst.
nach Tagen	Gesamtzahl	Gesamtzahl
0	= 69 Konidien	= 87 Konidien
7	= 43 = 62%	= 22 = 25%
14	= 65 = 94%	= 38 = 44%
21	= 68 = 99%	= 43 = 49%

b) Konidienkeimung vom 22. Februar bis 5. April 1947		
	Ascosporenaustritt aus Blattperithecien in Zimmertemperatur von + 17° C	Ascosporenaustritt aus Blattperithecien die 4 Tage in Freilandtemperaturen von —9 bis —13°C, danach bei + 17°C konst. gehalten wurden
nach Tagen	Gesamtzahl	Gesamtzahl
0	= 26 Perithezien	= 27 Perithezien
7	= 0 = 0%	= 0 = 0%
14	= 0 = 0%	= 0 = 0%
21	= 2 = 8%	= 0 = 0%
28	= 8 = 31%	= 2 = 7%
35	= 17 = 65%	= 21 = 78%
42	= 20 = 77%	= 26 = 96%

Perithezien miteinander, so sieht man, daß die Konidien durch die Kälte geschädigt worden sind, die Perithezienausreifung dagegen gefördert worden ist. Diese auch in der Natur vorkommenden Verhältnisse weisen auf einen erheblichen Vorteil der Ascosporenproduktion für den Pilz während des Frühjahrs hin.

In diesem Zusammenhang ist es übrigens bemerkenswert, daß nach Wilsons (1928) Befunden bei *Venturia inaequalis* auch die Perithezienbildung durch Temperaturschocks unter Einschaltung niedriger Temperaturen (— 4° und — 18° C) zuweilen gesteigert werden kann. Für *Venturia pirina* liegen noch keine derartigen Untersuchungen über die Perithezienbildung vor. —

Die Beimpfung von diesjährigen (1947) Birnensämlingen von 6 frei abgeblühten Birnensorten a) mit Ascosporen und b) mit Konidien schließlich hat folgendes ergeben: Die Tabelle 5 enthält die auf die einzelnen Bewertungsstufen (0 = befallsfrei bis 5 = sehr stark befallen) entfallende Anzahl Sämlinge. Der nach Beimpfung aufgetretene Schorfbefall der Sämlinge wurde 1947 nach Intervallen von jeweils 4—5 Wochen dreimal und 1948 nach fast 10 Monaten abschließend ein viertes Mal bewertet. Die für 1947 in der Tabelle verzeichneten einzelnen Bewertungen zeigen recht deutlich, daß die mit Ascosporen beimpften Sämlinge wesentlich schwächer schorfbefallen sind als die mit Konidien beimpften, wobei in beiden Impfgruppen die Krankheit nach jeder Bewertung zugenommen hat. Daß tatsächlich jedoch die Infektionsbereitschaft der Ascosporen nicht geringer ist als diejenige der Konidien, zeigen die ganz anderen Befallsergebnisse der vierten Bewertung 1948. In den seit dem 10. Mai 1947 nicht wieder beimpften und ständig isoliert gehaltenen beiden Impfgruppen hat am 25. Juni 1948 die Krankheit aus der damaligen Ascosporeninfektion in betreffender Gruppe sich weiterhin und zwar jetzt merklich ausgedehnt, während sie in der damals mit Konidien infizierten Gruppe ihre Befallsstärke aus der dritten Bewertung des Vorjahres noch längst nicht wieder erreicht hat. Im Endeffekt sind beide Infektionen an diesem Zeitpunkt nahezu gleich. Man ersieht aus dem Vergleich der Versuchsergebnisse nun, daß die Ascosporen auf dem Wirt ebenso gut gehaftet haben müssen wie die Konidien, daß ihr Myzel sich langsamer, jedoch sehr beharrlich bis zur Konidiensporulation entwickelt hat. Demnach ist die Infektionsbereitschaft der Ascosporen nur hinsichtlich der Anzahl gebildeter Sporengenerationen auf den Wirt geringer als die der Konidien, nicht aber hinsichtlich der Aggressivität und des Haftens.

Ein Überblick auf die Ergebnisse der drei vorstehend betrachteten Versuche (Tabelle 3—5) läßt folgendes feststellen: Aus der im Vergleich zu den Ascosporen schnelleren Keimung in Nährlösungen und größeren Anzahl von Sporengenerationen auf dem Wirt bei den Konidien geht eine schnellere Entwicklung derselben gegenüber den Ascosporen hervor. Die Konidien haben sich damit als reaktionsbereiter erwiesen als die Ascosporen, die sich auf dem Wirt entsprechend träger, aber sehr beharrlich entwickeln. Die unterschiedliche Entwicklung beider Sporenarten äußert sich, sofern der Vergleich

Tabelle 5

Ergebnisse der Beimpfung von diesjährigen Birnensämlingen von 6 frei abgeblühten Birnensorten

*) Bewertungsstufen: 0 = befallsfrei bis 5 = sehr stark befallen

Beginn am 10. Mai 1947	Sämlinge von:	Summe	Befallsergebnisse bei Infektionen vom 10. V. 1947 a) mit Ascosporen *)0	1	2	3	4	5	Summe	Befallsergebnisse bei Infektionen vom 10. V. 1947 b) mit Konidien *)0	1	2	3	4	5
1. Bewertung am 6. Juni 1947	Nr. IV	20	11	5	3	1	0	0	20	1	1	3	5	6	4
	VII ...	15	9	3	2	1	0	0	15	2	2	1	2	5	3
	XIII ..	20	9	5	0	3	3	0	20	2	0	4	8	3	3
	XVI ..	20	7	5	5	2	1	0	20	3	1	1	6	4	5
	Grüne Jagdbirne	15	5	4	4	2	0	0	15	0	2	1	5	4	3
	Oberösterr. Weinbirne	10	6	2	0	2	0	0	10	0	0	0	5	3	2
		100	47	24	14	11	4	0	100	8	6	10	31	25	20
2. Bewertung am 5. Juli 1947	Nr IV	20	8	6	5	1	0	0	20	1	1	1	6	7	4
	VII ...	15	8	1	4	2	0	0	15	2	0	0	5	3	5
	XIII ..	20	7	4	2	4	3	0	20	0	0	3	9	4	4
	XVI ..	20	7	3	6	3	1	0	20	1	1	0	7	6	5
	Grüne Jagdbirne	15	5	3	5	1	1	0	15	0	0	0	6	4	5
	Oberösterr. Weinbirne	10	4	1	2	3	0	0	10	0	0	0	4	3	3
		100	39	18	24	14	5	0	100	4	2	4	37	27	26
3. Bewertung am 8. August 1947	Nr. IV	20	5	3	7	3	2	0	18	1	1	0	5	5	6
	VII ...	15	4	0	5	4	2	0	15	1	0	1	4	4	5
	XIII ..	18	4	2	2	6	4	0	19	0	0	2	8	5	4
	XVI ..	20	3	4	7	4	2	0	20	1	1	0	5	7	6
	Grüne Jagdbirne	15	3	2	3	4	3	0	14	0	0	0	5	5	4
	Oberösterr. Weinbirne	10	3	2	1	2	1	1	10	0	0	0	3	4	3
		98	22	13	25	23	14	1	96	3	2	3	30	30	28
4. Bewertung am 25. Juni 1948	Nr. IV	20	2	1	5	5	5	2	18	2	3	3	7	2	1
	VII ...	15	2	1	3	6	3	0	15	2	1	3	5	2	2
	XIII ..	18	1	2	1	8	5	1	18	2	3	2	6	3	2
	XVI ..	19	0	1	3	9	4	2	20	1	1	3	9	3	3
	Grüne Jagdbirne	15	1	0	2	7	3	2	14	0	0	3	6	3	2
	Oberösterr. Weinbirne	9	0	0	0	4	3	2	10	0	0	0	2	5	3
		96	6	5	14	39	23	9	95	7	8	14	35	18	13

zwischen Konidien und Perithezien möglich ist, auch darin, daß die Konidienkeimung durch die tiefen Temperaturen stark geschädigt wird, welche die Ascosporenreife in den Schlauchfrüchten nach später Schockwirkung beschleunigen, wobei diese Ascosporen natürlich auch (zu 87%) keimfähig waren. Die langsame und zähe Entwicklung der Ascosporen wird, wie aus Tabelle 5 ersichtlich, das größte Ausmaß der von ihrem Myzel auf dem Wirt produzierten Konidienrasen häufig erst im nächsten Vegetationsjahr erreichen, so daß die Selektion befallsfreier (0) und sehr schwach befallener (1) Sämlinge im Versuchsjahr nur mit Vorbehalt beurteilt werden darf. Die Konidien besitzen also letzten Endes ihrer schnelleren Generationenfolge im Versuchsjahr wegen den größeren Infektionswert als die Ascosporen, die infolge ihrer beschränkten Lebensdauer von durchschnittlich Ende März bis Mitte Mai ohnehin nur kurze Zeit als Impfmaterial verfügbar sind. —

Über die Verhältnisse der Schorfresistenz in den Nachkommenschaften von in Tabelle 1 beobachteten frei abgeblühten Edelsorten und von 3 von der Praxis als ziemlich schorffest bezeichneten frei abgeblühten Mostsorten (Saatgut aus Südwestdeutschland) liegen infolge der bisher kurzen Versuchszeit erst vorläufige Ergebnisse vor. Die Sämlinge wurden im ersten Jahr bis Oktober im Frühbeet gehalten, einmal mit Ascosporen und zweimal mit Konidien beimpft, bewertet und danach im Obstquartier aufgeschult. Im nächsten Jahr wurden die befallsfreien bis sehr schwach befallenen Sämlinge abermals mit Konidien beimpft usw. Die Beimpfung und Behandlung der Impflinge geschah nach der auf S. 273 angegebenen Methode. — Die zweijährigen Sämlinge sind auf diese Weise 5mal, die einjährigen 4mal beimpft worden. In den Tabellen 6 und 7 ist die auf die einzelnen Bewertungsstufen 0—5 entfallende Anzahl Sämlinge enthalten, wobei zur schnelleren Orientierung die Ergebnisse von jeweils zwei benachbarten Bewertungsstufen zusammengefaßt und zum Vergleich mit anderen solchen Gruppen in Prozent ausgedrückt sind.

Im Gegensatz zu den Mutterbäumen (Edelsorten in Tabelle 1) ist der Schorfbefall der 2- und 1jährigen Nachkommenschaften in den Tabellen 6 und 8 auffallend groß, worauf bereits auf S. 272 kurz hingewiesen worden ist. Unter den 2jährigen Sämlingen zeigen die Nachkommenschaften der Sorten Nr. VII (4 und 5 = 63%) und Nr. XVI (4 und 5 = 45%) den stärksten Befall, während unter den 1jährigen die Nachkommenschaft von Nr. III (4 und 5 = 34%) am anfälligsten ist. Dies Ergebnis ist nun insofern ziemlich enttäuschend, als die drei entsprechenden Mutterbäume — mit der einzigen Ausnahme von 1949: Nr. III, Blätter schwach befallen (2) — 4 Jahre hindurch befallsfrei bis sehr schwach befallen blieben. Umgekehrt ist in beiden Tabellen der Prozentsatz befallsfreier bis sehr schwach befallener Sämlinge (0 + 1) in den Nachkommenschaften von Nr. IV am größten, während ihr Mutterbaum (vgl. Tabelle 1) 1949 mit mäßig stark befallenen Blättern (3) und sehr stark befallenen Früchten (5) eine ausgesprochene Befallsneigung hat erkennen lassen. Darüber hinaus ist es nun bemerkenswert, daß in beiden Tabellen die Nachkommenschaften der drei Mostsorten den höchsten Prozent-

Tabelle 6

Schorfbefallsergebnisse von 2jährigen Birnensämlingen frei abgeblühter Edelsorten und Mostsorten nach 5maliger Beimpfung

17. Juli 1947 bis 5. August 1949

Sämlinge von Sorte Nr.	Summe	Befallsgrade								
		0	1	0 + 1	2	3	2 + 3	4	5	4 + 5
IV	179	18	21	39 (= 22%)	32	42	74 (= 41%)	42	24	66 (= 37%)
VII	19	0	2	2 (= 11%)	3	2	5 (= 26%)	7	5	12 (= 63%)
XIII	113	4	14	18 (= 16%)	26	26	52 (= 46%)	23	20	43 (= 38%)
XVI.....	248	2	11	13 (= 5%)	45	78	123 (= 50%)	74	38	112 (= 45%)
Oberösterreichische Weinbirne	17	3	2	5 (= 29%)	2	4	6 (= 35%)	0	6	6 (= 35%)
Grüne Jagdbirne	70	11	6	17 (= 24%)	14	22	36 (= 51%)	11	6	17 (= 24%)

Tabelle 7

Endergebnis von befallsfreien bis sehr schwach befallenen Birnensämlingen

0	1	0 + 1
38 (= 6%)	56 (= 9%)	94 (= 15%)

Von den 38 befallsfreien Birnensämlingen sind der Beschaffenheit nach nur 19 für weitere züchterische Arbeiten verwertbar, so daß aus insgesamt 646 bewerteten Sämlingen praktisch 19 = 3% schorfresistente hervorgegangen sind.

Tabelle 8

Schorfbefallsergebnisse von 1jährigen Birnensämlingen frei abgeblühter Sorten nach viermaliger Beimpfung

26. Juni 1948 bis 23. August 1949

Sämlinge von Sorte Nr.	Summe	Befallsgrade								
		0	1	0 + 1	2	3	2 + 3	4	5	4 + 5
III	224	3	2	5 (= 2%)	42	102	144 (= 64%)	65	10	75 (= 34%)
IV	358	22	40	62 (= 17%)	86	116	202 (= 56%)	74	20	94 (= 26%)
XIIIa	51	1	4	5 (= 10%)	10	20	30 (= 59%)	13	3	16 (= 31%)
Mostbirne aus Kirchheim	44	4	10	14 (= 32%)	7	10	17 (= 39%)	9	4	13 (= 30%)

Tabelle 9

Endergebnis von befallsfreien bis sehr schwach befallenen Birnensämlingen

0	1	0 + 1
30 (= 4%)	56 (= 8%)	86 (= 12%)

Von den 30 befallsfreien Birnensämlingen sind der Beschaffenheit nach nur 14 für weitere züchterische Arbeiten verwertbar, so daß aus insgesamt 677 bewerteten Sämlingen praktisch 14 = 2% schorfresistente hervorgegangen sind.

satz befallsfreier bis sehr schwach befallener Sämlinge von sämtlichen Nachkommenschaften aufgewiesen haben. Allerdings ist der Wert der Ergebnisse infolge der in allen drei Fällen geringen Nachkommenschaftszahlen nicht sicher genug. Die Keimkraft des Saatguts der drei Mostsorten war im Vergleich zu dem der meisten Edelsorten nämlich viel geringer, der Ausfall an Sämlingen dadurch größer. Außerdem befriedigten die Sämlinge in Entwicklung und Wuchsleistung großenteils nicht (Zwerg- und Krüppelwuchs, gestauchte Triebe). Immerhin kann festgestellt werden, daß die drei als relativ schorfresistent bezeichneten Mostsorten dieses Merkmal wesentlich stärker auf ihre Nachkommenschaften zu übertragen scheinen als die hiesigen drei befallsfreien bis sehr schwach befallenen Edelsorten Nr. VII, XVI und III. Demnach dürften die Nachkommenschaften dieser schorfresistenten Mostsorten für die Schorfresistenz wohl wertvoll sein, wenn ihr Wachstum genügen würde. Es ergibt sich also aus den Vergleichen der Nachkommenschaften bisher das Bild, dem zufolge relativ schorfresistente Mostsorten das Resistenzmerkmal auf ihre Nachkommenschaften deutlich vererbt haben, relativ schorffeste Edelsorten hingegen entschieden schwächer und schließlich eine anfällige Edelsorte, vergleichsweise h i e r z u , einen höheren Prozentsatz relativ unanfälliger Sämlinge hervorgebracht hat. Eine genauere Erklärung der hier obwaltenden Erbverhältnisse ist aus diesen Versuchen natürlich nicht möglich, zumal die vielen unbekannten väterlichen Pollenherkünfte eine Analyse ohnehin sehr erschweren würden. Vielleicht jedoch besitzen die der Wildform näherstehenden Mostsorten mehr Resistenzgene, die sich nach der breiten Aufspaltung häufiger auf die Nachkommen wirksam verteilt finden als die Edelsorten, wo das dementsprechend weniger der Fall sein würde. — Die Anmerkungen zu den Tabellen 7 und 9 schließlich besagen, daß infolge Ausfalls durch anderweitige Schäden das Endergebnis der befallsfreien bis sehr schwach befallenen (0 + 1) Sämlinge bei den 2jährigen Nachkommenschaften von 15% auf 12% und bei den 1jährigen von 12% auf 10% herabgesetzt werden muß. Somit liegt der Prozentsatz praktisch weiter verwendbarer schorffreier Sämlinge bisher bei 3% und 2%.

Mikroskopische Beobachtungen

Die von anderen Autoren noch nicht aufgezeigten mikroskopischen Befallsbilder von *Venturia pirina* auf Birnblättern zeigen, nach den bisherigen Studien, eine bemerkenswerte Übereinstimmung mit den von Nusbaum und Keitt (1938) für *Venturia inaequalis* auf Apfelblättern eingehend beschriebenen und illustrierten Befallsbildern. Es wird hier deshalb an 4 Mikrophotos auf die starke Ähnlichkeit der wichtigsten mykologischen Entwicklungsabschnitte nur hingewiesen. Die dargestellten Objekte stammen von Querschnitten aus in Alkohol fixierten Birnblättern — und sind durch 6—9tägige Behandlung in Glycerin bei 23° C vom Wirtsgewebe abgehoben worden. — In Abb. 5 liegt neben einem alten Träger eine dicht unterhalb ihres rechten Poles mit einem winzigen trichterförmigen Schlauch gekeimte Konidie. Oberhalb des Schlauches ist eine kleine Verdichtung des Sporenplasmas sichtbar. Die Keimschläuche der Konidien waren, wie für *Venturia inaequalis* beschrie-

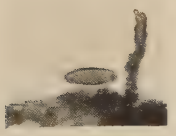


Abb. 5. Keimende Konidie. Vergr. 200fach

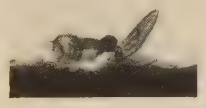


Abb. 6. Konidie mit anhängendem Appressorium. Vergr. 200fach

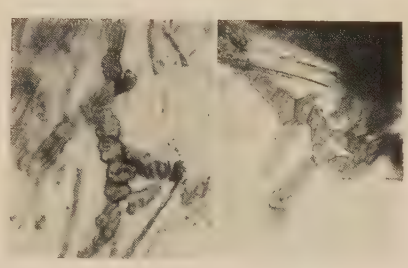


Abb. 7. Primäre Stromata. Vergr. 200fach

ben, sehr kurz oder fehlten und waren gewöhnlich als bloße Protuberanzen an einem Sporenende sichtbar. — Der zarte Sporenkeimschlauch wächst zu einem nicht selten gefalteten Appressorium aus, an dessen Grunde sich ein Porus zum Durchtritt der die Kutikula durchbohrenden Primärhyphe befindet. Auf Abbildung 6 ist eine abgehobene Konidie mit anschließendem gefalteten Appressorium ohne die weiteren Einzelheiten erkennbar. — Die zwischen Kutikula und Epidermis wuchernde Primärhyphe teilt sich alsbald häufig und bildet damit eine Anzahl gedrungener, flächenförmig zusammenliegender Zellen, ein primäres Stroma als Ausgangspunkt von in anderen Richtungen verlaufenden sekundären Hyphen. Auf Abbildung 7 sind zwei solche primäre Stromata sichtbar. Die sekundären Hyphen bilden entsprechend sekundäre Stromata, von denen tertiäre Hyphen ausstrahlen. Auf Abb. 8 sind sekundäre Hyphe (links), sekundäres Stroma (Mitte) und tertiäre Hyphe (rechts)

Abb. 8. Sekundäre Hyphe (links), Sekundäres Stroma (Mitte), Tertiäre Hyphe (rechts). Vergr. 200fach

vom Wirtsboden abgehoben und von der Seite aufgenommen. — Für *V. pirina* konnte allerdings der mikroskopische Nachweis noch nicht erbracht werden, wonach, wie bei *V. inaequalis* (Nusbaum und Keitt 1938), die verschiedenen massiven Pilzstromata noch unter der intakten Kutikula liegen, der dementsprechend eine beachtliche Dehnbarkeit zugesprochen worden ist. Die hiesigen normal behandelten mikroskopischen Präparate erweckten hingegen häufig den Eindruck, als sei die Kutikula unter dem Druck dieser Hyphenmassen frühzeitig und weitreichend aufgerissen worden. —

Zusammenfassung und Ausblick

1. Im pomologischen Schrifttum wird die Schorffestigkeit von Birnensorten hervorgehoben; die Anzahl solcher Sorten ist ziemlich gering; beides ist ein deutlicher Hinweis auf die Schorfanfälligkeit der meisten Birnensorten.
2. Vierjährige, lokale Schorfbeobachtungen an 20 Birnensorten haben für drei einander folgende Jahre in dem hiesigen schorfgünstigen Klima keinen starken Schorfbefall gezeigt; erst im vierten Jahr trat dieser bei mehreren bis dahin geringfügig befallenen Sorten deutlich hervor. Schorfbeobachtungen eines im Schorfklima gelegenen Kleinbetriebs können daher zu schweren Trugschlüssen über die Stärke der Krankheit führen, was sich hier außerdem aus dem starken Schorfbefall künstlich infizierter Nachkommenschaften von gesund erscheinenden Sorten ergibt.
3. Künstliche Infektionen gesunder Bäume haben zu einem nur schwach ausgeprägten Krankheitsbild geführt. Aus der Beimpfung gesunder Blätter und Früchte jeweils getrennt mit Blatt- und Fruchtschorfkonidien ging hervor, daß die Blätter schorfresistenter sind als die Früchte. Dieser Befund erschwert die Schorfresistenzzüchtung wegen der späten Ermittlung der betreffenden Fruchteigenschaft erheblich. — Blattschorf und Fruchtschorf können nicht durch bestimmte Pilzmorphotypen charakterisiert werden. Hingegen kann der vorherrschende Morphotyp einer Blattschorfpopulation nach Überimpfung auf gesunde Früchte hier zugunsten eines drüben in Minorität befindlichen Morphotyps fast verschwinden.
4. Der experimentelle Vergleich in Nährlösungen, bei niedrigen Temperaturen und von Infektionen zwischen Ascosporen und Konidien ergab, daß die Konidien sich insgesamt als reaktionsbereiter erwiesen haben als die Ascosporen, die sich auf dem Wirt träger aber sehr beharrlich entwickeln. Die Konidien besitzen wegen ihrer schnelleren Generationenfolge im Versuchsjahr den größeren Infektionswert als die Ascosporen. —
5. Die bisherigen Ergebnisse der Schorfbefallsprüfungen an beimpften zwei- und einjährigen Birnensämlingen, Nachkommenschaften von frei abgeblühten Edelsorten und Mostsorten, besagen, daß relativ schorffeste Mostsorten das Resistenzmerkmal deutlich auf ihre Nachkommenschaften vererbt haben, relativ schorffeste Edelsorten hingegen viel

schwächer und eine anfällige Edelsorte, vergleichsweise hierzu, einen höheren Prozentsatz relativ unanfälliger Sämlinge hervorgebracht hat. Der Prozentsatz praktisch schorffreier Sämlinge beträgt bei den zweijährigen 3%, bei den einjährigen 2%.

6. Die mikroskopischen Befallsbilder des Birnblattschorfs zeigen eine bemerkenswerte Übereinstimmung mit den von Nusbaum und Keitt (1938) für den Apfelblattschorf dargestellten Bildern.

Mit den vorgestellten Untersuchungen sind mehrere die Schorfanfälligkeit von Birnen betreffende wesentliche Erscheinungen dargelegt worden, die bei den auf Schorfresistenz abzielenden züchterischen Arbeiten berücksichtigt werden müssen. Damit sind zugleich auch einige diese Züchtung erschwerende Momente angeführt worden. Im ganzen können die Aussichten auf die Züchtung schorfresistenter Birnensorten aber nicht ungünstiger beurteilt werden als beim Apfel, vorwiegend deshalb nicht, weil bei der Birne im Gegensatz zum Apfel von vornherein einige recht schorfresistente Ausgangsvarietäten für die Arbeiten gegeben sind. —

Im Rahmen obiger Untersuchungen sind noch mehrere größere Lücken leicht erkennbar:

Zweifellos würde sich die Schorfanfälligkeit von Birnen am klarsten mittels einer systematischen Durchprüfung eines für deutsche Verhältnisse vollständigen Birnensortiments, womöglich gleichzeitig an klimatisch verschiedenen Orten, feststellen lassen. Eine solche Durchtestung ist 1949 in dem seit 1947 bestehenden hiesigen Birnensortiment begonnen worden. Sie dürfte kaum vor Ablauf von mindestens drei Jahren zu verwertbaren Ergebnissen führen. — Die absolute Schorfresistenz der bisher ermittelten „O"-Individuen wird sich erst nach deren reinkloniger Vermehrung und anschließender Prüfung mit mehreren verschieden virulenten Schorfstämmen erweisen lassen. —

Es ist noch ziemlich ungewiß und darum zu prüfen, ob bei der bekanntlich breiten Aufspaltung des Kernobsts der Prozentsatz schorffester Nachkommenschaften aus systematischer Kreuzung schorfresistenter Eltern wesentlich größer sein wird als nach freier Bestäubung eines derartigen Mutterbaumes. —

Die Schorfanfälligkeit der namentlich bei der jungen Birne nicht seltenen topophysischen Triebe im Vergleich zu derjenigen der vorherrschenden gewöhnlichen Triebe bildet eine im Interesse der Birnengenetik und allgemeinen Phytopathologie gelegene weitere Untersuchungsaufgabe. —

Die Ursachen der im Vergleich zum Blattschorf des Apfels unterschiedlichen Befallstopographie des Blattschorfs der Birne bedürfen zwecks Erlangung physiologischer Resistenzmerkmale noch besonderer experimenteller Klärung. —

Diese Untersuchungen lassen als Fortsetzung der vorgestellten, sowie der Arbeiten von Wiesmann, Herbst, Herbst und Rudloff, Langford und Keitt, Crane und Lewis eine Abrundung der Schorfforschung auch bei der Birne zum Nutzen der Schorfresistenzzüchtung erhoffen. —

Literatur

1. Crane, M. B. and Lewis, D., 1949. Genetical Studies in Pears, Vegetative and Fruit characters. Heredity **3**, 85—97.
2. Herbst, W., 1936. *Venturia pirina* Aderhold. Zur Formenmannigfaltigkeit des Pilzes. Gartenbauwissenschaft **10**, 428—450.
3. — —, 1938. *Venturia pirina* Aderhold. II. Die Abhängigkeit der Formenverbreitung von meteorologischen Faktoren. Gartenbauwissenschaft **11**, 35—53.
4. — —, 1941. Zum Stande unserer Erkenntnis über die Biologie des Fusikladiums. Forschungsdienst **11**, 553—565.
5. — — und Rudloff, C. F., 1936. Das Verhalten der Sommersporen (Conidien) von *Venturia inaequalis* und *Venturia pirina* bei der Keimprobe in Dekokten und Extrakten höherer Pflanzen. Gartenbauwissenschaft **10**, 688—698.
6. Koloc, R., 1948. Obstsorten-Handbuch (Äpfel und Birnen) Frankfurt/Main.
7. Nusbaum, Ch. J. and Keitt, G. W., 1938. A Cytological Study of Host-Parasite Relations of *Venturia inaequalis* on Apple Leaves. Journ. of Agr. Res. **56**, 595—618.
8. Rudloff, C. F., 1935. *Venturia inaequalis* (Cooke) Aderhold. Der Einfluß des Nährbodens auf den Pilz und die Erhaltung seiner Pathogenität. Gartenbauwissenschaft **9**, 65—91.
9. Schmidt, M., 1937/38. *Venturia inaequalis* (Cooke) Aderhold. VII. Zur Morphologie und Physiologie der Widerstandsfähigkeit gegen den Erreger des Apfelschorfes. Gartenbauwissenschaft **11**, 222—230.
10. — —, 1939. Handbuch der Pflanzenzüchtung (Römer-Rudorf V, 55—58).
11. Wilson, E., 1928. Studies of the ascigerous Stage of Venturia inaequalis (Cke). Wint. in Relation to certain Factors of the Environment. Phytopathology **18**, 375—418.
12. Deutschlands Obstsorten 2 und 3, Stuttgart.

Mitteilung der Eidgenössischen Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt, Zürich-Oerlikon (Direktor Dr. R. KOBLET) und der Schweizerischen Hagelversicherungsgesellschaft, Zürich (Direktor Dr. E. FÄH).

Untersuchungen über Hagelschäden

III. Gerste

Von

HANS ZOGG

Mit 2 Abbildungen

Eingegangen am 20. Juni 1951

Als Fortsetzung von zwei früheren Arbeiten (ZOGG, 1948 a und b) wurden unter anderem Knickversuche an Gerste durchgeführt. Die Methodik ist in der ersten Arbeit beschrieben und wurde unverändert für die folgenden Untersuchungen übernommen. Die Versuche erstreckten sich hauptsächlich über die Jahre 1945 bis 1950. Als Beispiel soll der letzte Versuch im Reckenholz (Zürich) kurz besprochen werden. Es kamen lediglich untere und obere Knickungen in verschiedenen Wachstumsstadien der Gerste zur Anwendung (Tabelle 1). Die Resultate, die nach der Methode der Streuungszerlegung (FISHER, 1941; SNEDECOR, 1946; LINDER, 1945) ausgewertet wurden, sind in der Tabelle 2 wiedergegeben.

Für die einzelnen Kolonnen der Tabelle 2 ergibt sich folgendes Bild:

a) Körnergewicht. Mit Ausnahme der Verfahren 4 (= Deckblattlähmung), 10, 11 und 12 sind die Verluste an Körnergewicht gegenüber unbehandelt als verschieden zu betrachten. — Die Knickungen zur Zeit der Bestockung zeitigten schwächere Verluste als diejenigen zur Zeit des Schossens, deren Schäden mit denjenigen der unteren Knickung vor dem Ährenschieben sowie vor und nach der Blüte gleich zu setzen sind. Die oberen Knickungen vor der Blüte, nach der Blüte und bei Milchreife wiesen geringere Schäden auf als die entsprechenden unteren Knickungen.

b) Strohgewicht. Einzig die Verfahren 1, 2 und 5 wiesen gesicherte Strohverluste auf gegenüber unbehandelt. Die übrigen Verfahren sind von unbehandelt nicht verschieden. Dabei ist zu bemerken, daß bei der Ernte sämtliches Stroh in die Wägungen einbezogen wurde.

c) Körnerqualität. Als Kriterium der Körnerqualität wurden das Tausendkorngewicht und das Hektolitergewicht herangezogen. Für die

Tabelle 1

Verfahren, Behandlungsdaten und Wachstumsstadien der Sommergerstenpflanzen (*Hordeum distichon L.* Sorte Kenja) des Knickversuches im Reckenholz, Zürich 1950

Stadium	Datum	Entwicklungszustand der Gerste
1. Frühstadium	24. 5.	Pflanzen etwa 30 cm hoch, gegen Ende der Bestockung. 5 cm über dem Boden geknickt und festgetreten.
2. Frühstadium	31. 5.	Pflanzen etwa 50 cm hoch, im Schossen. 5 cm über dem Boden geknickt und festgetreten.
3. Vor dem Ährenschieben, untere Knickung 10 cm über dem Boden.	8. 6.	Die Grannen sind noch nicht erschienen. Bei etwa der Hälfte der Ähren stecken sie bereits zuoberst in der Blattscheide.
4. „Deckblattlähmung“	8. 6.	Die meisten der geknickten Deckblätter federten wegen der elastischen Grannen sofort in die Normallage zurück.
5. Vor der Blüte, untere Knickung 10 cm über dem Boden.	16. 6.	Die Ähren haben zum größten Teil geschoben.
6. Vor der Blüte, obere Knikkung zwischen dem obersten Knoten und der Ähre.	16. 6.	
7. Nach der Blüte, untere Knickung 10 cm über dem Boden.	21. 6.	Die Fruchtknoten sind bereits im Wachstum begriffen.
8. Nach der Blüte, obere Knikkung zwischen dem obersten Knoten und der Ähre.	21. 6.	
9. Bei Milchreife, untere Knickung 10 cm über dem Boden.	28. 6.	Die Körner sind gut ausgebildet; ihr Inhalt ist noch dünn milchig (frühe Milchreife)
10. Bei Milchreife, obere Knikkung zwischen dem obersten Knoten und der Ähre.	28. 6.	
11. Bei Gelbreife, untere Knickung 10 cm über dem Boden.	10. 7.	Die Körner sind noch nicht ganz hart, jedoch nicht mehr milchig.
12. Bei Gelbreife, obere Knikkung zwischen dem obersten Knoten und der Ähre.	10. 7.	

einzelnen Verfahren ergaben sich ziemlich große Unterschiede. Die erhaltenen Werte laufen mit dem Körner- und Ährengewicht gut parallel, was heißt, daß neben dem Körnergewichtsverlust eine starke Verschlechterung der Kornausbildung einhergeht. Die Verfahren 4, 10, 11 und 12 erlitten kaum Einbußen hinsichtlich des Tausendkorn- und Hektolitergewichtes, wogegen die Knickungen in den Frühstadien und die unteren Knickungen bis zur Milch-

Tabelle 2

Resultate des Knickversuches an Sommergerste (Kenja) im Reckenholz (Zürich-Oerlikon) 1950

Mittelwerte der Ertragsveränderungen in % gegenüber unbehandelt

Stadium der Knickung	Körnergewicht %	Strohgewicht %	1000-Korngewicht %	Hektolitergew. %	Ährengewicht %	Anzahl Ähren %
1. Frühstadium, zur Zeit der Bestockung	—37.7	—18.8	—29.4	—12.5	—32.6	+14.8
2. Frühstadium, zur Zeit des Schossens	—50.9	—16.3	—28.5	—14.1	—44.1	— 1.2
3. Vor dem Ähren-schieben, untere Knickung	—54.8	— 4.6	—24.4	—15.3	—50.4	—18.3
4. „Deckblattlähmung“	+ 0.1	+ 4.4	— 2.7	+ 0.1	—0.5	+ 0.6
5. Vor der Blüte, untere Knickung	—56.7	—20.4	—28.5	—19.0	—50.4	—28.4
6. Vor der Blüte, obere Knickung	—28.2	— 8.1	—14.8	— 8.3	—24.8	— 9.3
7. Nach der Blüte, untere Knickung	—49.6	— 6.1	—38.8	—24.0	—41.7	— 9.0
8. Nach der Blüte, obere Knickung	—16.7	+ 5.0	—16.3	— 9.9	—12.3	+ 6.8
9. Bei Milchreife, untere Knickung	—18.3	+ 1.1	—20.0	—14.0	—12.0	+ 6.8
10. Bei Milchreife, obere Knickung	— 4.6	0.0	— 9.4	— 4.1	— 1.7	+11.9
11. Bei Gelbreife, untere Knickung	— 9.8	—13.6	— 0.7	— 0.4	— 8.6	— 7.0
12. Bei Gelbreife, obere Knickung	— 5.0	+ 5.7	— 5.7	0.0	— 3.2	— 0.9
Streuungszerlegung:						
t-Test: P = 0.05:	8.5	14.1	5.4	5.7	9.5	10.1
P = 0.01:	11.3	18.8	7.3	7.6	12.7	13.6
F-Test: P = 0.05:	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
P = 0.01:	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4
Versuch:	177.3	89.5	462.9	497.7	150.2	187.3

reife starke Verluste verursachten. Die oberen Knickungen bis zur Milchreife wiesen geringere Einbußen auf als die entsprechenden unteren Knickungen.

d) Ährengewicht. Das Ährengewicht geht in diesem Versuch dem Körnergewicht parallel.

e) Anzahl Ähren. Bei der Knickung im ersten Frühstadium — zur Zeit der Bestockung — ist eine vermehrte Ährenbildung festzustellen. Es sind

mehr neue Stockausschläge zur Ährenbildung gelangt als im zweiten Frühstadium zur Zeit des Schossens. Die unteren Knickungen vor dem Ährenschieben und vor der Blüte verursachten eine Verminderung der Ährenzahl. Bei allen übrigen Verfahren ist die Ährenzahl gegenüber unbehandelt als nicht verschieden zu betrachten.

Die Mittelwerte aus den 6 Versuchen der Jahre 1945 bis 1950 (Tabelle 3 und Abbildungen 1 und 2), die in Zürich (Reckenholz), Aarburg und Barzheim durchgeführt wurden, zeigen, daß die Resultate ungefähr in den gleichen Grenzen liegen wie diejenigen des Weizens (ZOGG, 1948 a).

Tabelle 3

Mittelwerte der Körner- und Strohverluste aus den Knickversuchen an Sommer- und Wintergerste der Jahre 1945—1950

Stadium der Knickung	Zahl der auswertbaren Versuche	Ertragsveränderungen in % gegenüber unbehandelt	
		Körnergewicht	Strohgewicht
Frühstadium zur Zeit der Bestockung	2	—39.3 %	—26.4 %
Frühstadium zur Zeit des Schossens	2	—42.5 %	—13.9 %
Vor dem Ährenschieben, untere Knickung . . .	4	—51.1 %	— 3.1 %
Vor dem Ährenschieben, mittlere Knickung . .	4	—50.2 %	—18.0 %
Vor dem Ährenschieben, obere Knickung . . .	2	—46.2 %	—14.2 %
Vor dem Ährenschieben, „Deckblattlähmung" .	3	—19.9 %	— 8.8 %
Vor der Blüte, untere Knickung	4	—49.1 %	— 9.6 %
Vor der Blüte, mittlere Knickung	5	—39.7 %	—11.5 %
Vor der Blüte, obere Knickung	6	—32.1 %	— 8.5 %
Nach der Blüte, untere Knickung	4	—24.4 %	+ 0.4 %
Nach der Blüte, mittlere Knickung	5	—25.9 %	— 7.6 %
Nach der Blüte, obere Knickung	6	—22.9 %	— 7.7 %
Bei Milchreife, untere Knickung	4	—12.3 %	+ 3.7 %
Bei Milchreife, mittlere Knickung	5	—18.2 %	— 8.2 %
Bei Milchreife, obere Knickung	6	—20.9 %	— 5.6 %
Bei Gelbreife, untere Knickung	4	—14.7 %	— 0.8 %
Bei Gelbreife, mittlere Knickung	3	— 1.6 %	+17.3 %
Bei Gelbreife, obere Knickung	4	—13.9 %	— 0.6 %

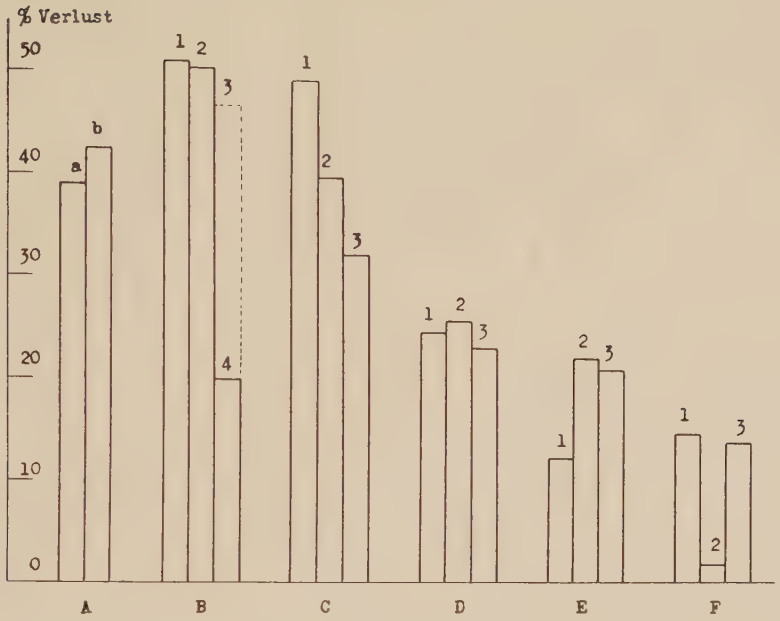


Abb. 1. Knickversuche an Gerste, 1945—1950. Mittelwerte der prozentualen Verluste an Körnergewicht. a: Zur Zeit der Bestockung, b: Zur Zeit des Schossens. Ordinate: Verlust-Prozente. A: Frühstadien. B: Vor dem Ähreschieben. C: Vor der Blüte. D: Nach der Blüte. E: Bei Milchreife. F: Bei Gelbreife. 1: Untere Knickung, etwa 10 cm über dem Boden. 2: Mittlere Knickung ungefähr in der Mitte des Halmes. 3: Obere Knickung zwischen dem obersten Halmknoten und der Ähre. 4: „Deckblattlähmung", Knickung der obersten Blattscheide über der noch in der Scheide steckenden Ähre (vor dem Ähreschieben).

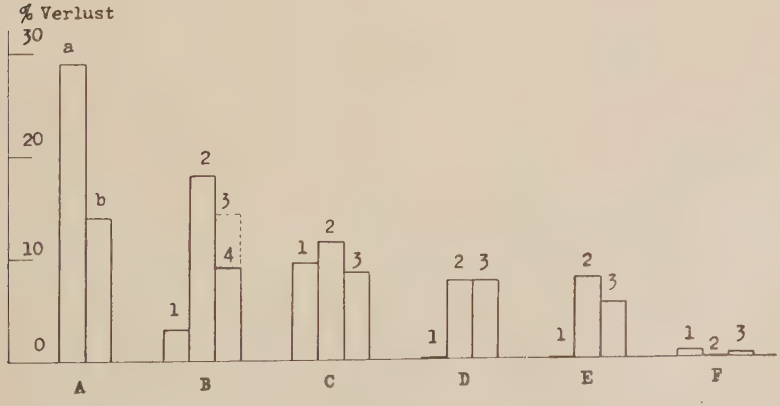


Abb. 2. Knickversuche an Gerste, 1945—1950. Mittelwerte der prozentualen Verluste an Strohgewicht. Ordinate: Verlust-Prozente. Bezeichnung gleich wie in Abbildung 1.

Literatur

Fisher, R. A., 1941. Statistical methods for research workers. Edinb. a. London, Oliver a. Boyd, 8. Aufl.

Linder, A., 1945. Statistische Methoden für Naturwissenschafter, Mediziner und Ingenieure. Basel, Birkhäuser, 150 S.

Snedecor, G. W., 1946. Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology. Ames, Iowa. The Iowa State College Press. 4. Aufl. 485 S.

Zogg, H., 1948 a. Untersuchungen über Hagelschäden. I. Winter- und Sommerweizen. Phytopath. Ztschr., **15** (1) : 124—135.

— —, 1948 b. Untersuchungen über Hagelschäden. II. Zuckerrüben. Phytopath. Ztschr., 15 (1) : 136—141.

Aus der Eidg. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil

Über die Symptome der Pfeffingerkrankheit der Kirschbäume

Von

Karl Stoll

Mit 7 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — I. Allgemeines über den Bau des Blattes und die veränderte Blattzähnung. — II. Die gestörte Blattaderung und der veränderte Zustand des Blattstiels. — III. Auffallende Farbänderungen als Folge der Viruserkrankung. — IV. Die Bildung von Enations und anderer abnormer Auswüchse am Blatt. — V. Die Veränderungen an den extrafloralen Nektarien. — VI. Das Auftreten der Symptome bei verschiedenen Sorten. — Diskussion — Zusammenfassung — Summary — Literatur.

Einleitung

Die Symptome der Pfeffingerkrankheit sind bereits von K. Roos (13) und S. Blumer (3) beschrieben worden. Bei der nachstehenden Darlegung verschiedener Blattabnormitäten kann es sich nur um einige ergänzende Feststellungen handeln. Die möglichst genaue Erfassung kleinster morphologischer und anatomischer Veränderungen ist vor allem erwünscht für das Erkennen von Grenzfällen und der Ausscheidung möglicherweise vorhandener symptomloser Träger der Krankheit. Für ausführlichere Literaturangaben aus dem Gebiete der Steinobstvirosen kann auf S. Blumer (3) verwiesen werden. Ich möchte an dieser Stelle Herrn Dr. S. Blumer für die vielen anregenden Hinweise bestens danken. Den Herren R. Isler und U. Vetsch sei der beste Dank ausgesprochen für die Besorgung der Bildaufnahmen. Die Mikroaufnahmen stammen von U. Vetsch.

I. Allgemeines über den Bau des Blattes und die veränderte Blattzähnung

Ein typisches Symptom der Pfeffingerkrankheit ist die Ausbildung sehr kleiner Blätter an den Kurztrieben des älteren Holzes, während die Blätter der neuen Langtriebe oft normale, oft auch übernormale Größe aufweisen. Am kranken Blatt der Kurztriebe fällt zudem die lederige, trockene, sich rauh anfühlende „rösche" Beschaffenheit auf. Beim Betasten entsteht ein eigentümliches Geräusch. Das Blatt ist meistens dicker; es wurden Werte von über 300 μ festgestellt, während gesunde Blätter derselben Sorte 150—200 μ maßen. Der rauhe und steife Blattcharakter läßt sich so erklären, daß trotz

der Kleinheit des Blattes eine normale Anzahl Adern ausgebildet wurde, und dadurch pro Flächeneinheit mehr mechanisch verstärkte Leitelemente vorhanden sind, die dem Blatt eine erhöhte Festigkeit verleihen. Ferner sind die Gefäßwände des Xylem etwas dicker als normal, und auch der Blattrand trägt bei zum veränderten Verhalten.

Der Blattrand von *Prunus avium* ist normalerweise grob doppelt-kerbig gesägt. An den Blättern kranker Äste erhält er eine mehr oder weniger gezähnte Ausprägung. An normal großen Blättern sind oft einzelne Zähne rückgebildet und andere abnormal vergrößert worden. Das verleiht dem Blattrand ein sehr unregelmäßiges, wildes Aussehen. An kleineren Blättern werden die Zähne nicht dementsprechend verkürzt, sie sind jedoch verschmälert und enger aneinandergereiht, wodurch ein sehr feinzähiger Rand entsteht. Der einzelne Zahn hat sich meistens derart verändert, daß die Breitenzunahme mit der Längenzunahme nicht Schritt halten konnte. Knapp hinter dem gummiartigen Drüsenspitzchen erscheint er wie eingeschnürt. Sowohl an den Haupt- wie an den Nebenzähnen findet eine kräftigere Entwicklung der Drüsenspitzchen statt. Die typischen Blattrandveränderungen treten nicht an allen Bäumen auf, die an der Krankheit leiden. Viele Anzeichen lassen den Schluß zu, daß der veränderte Blattrand Ausdruck eines akuten Krankheitsstadiums ist.

Abb. 1. Kranke Blätter der Sorte Bingkirsche, welche Kleinblättrigkeit, Deformationen und veränderten Blattrand zeigen

An krankheitsverdächtigen Bäumen wurden oft Blätter mit blasigen Aufwölbungen und nässenden Stellen längs der Mittelrippe beobachtet. Ob diese als Primärsymptome der Pfeffingerkrankheit angesprochen werden können, oder ob diese Symptome anderen Ursachen zuzuschreiben sind, bleibt noch abzuklären. Bei der ebenfalls festgestellten Eichenblättrigkeit herrscht die Vermutung vor, daß es sich um Hungerformen von Blättern handelt, wie sie an frisch gepfropften Bäumen oder an beschädigten Ästen gelegentlich vorkommen. Interessant ist die gelegentlich vorkommende Dreilappigkeit des Blattes an kranken Bäumen.

II. Die gestörte Blattaderung und der veränderte Zustand des Blattstiels

Ein kennzeichnendes Merkmal der Pfeffingerkrankheit besteht im gestörten Aderverlauf. Oft kommt auch eine pathologische Unterdrückung oder Verstärkung der Haupt- und Nebenadern vor. Die Hauptader ist oft an der Blattspitze nur kümmerlich ausgebildet oder fehlt dort überhaupt. Der basale Teil der Seitenadern läuft meistens zuerst eine Strecke weit parallel der Hauptader oder ist sogar mit dieser ein Stück weit verwachsen. Hier haben wir es mit einer gestörten Entfaltungsbewegung des Blattes zu tun. Der Krankheitsstoff muß schon innerhalb der geschlossenen Knospe derart starke Wirkung haben, daß viele Blätter beim Knospenaufbruch sich gar nicht richtig entfalten und am basalen Teil dauernd schmal bleiben. Die Seitenadern sind auch häufig miteinander verwachsen, sie nehmen einen zittrigen, ungeordneten Verlauf, sie überkreuzen sich oder sind teilweise zurückgebildet. Wo das zuletzt erwähnte zutrifft, ist das Blatt meistens deformiert, das heißt, das Blatt ist asymmetrisch ausgebildet.

Die Adern kranker Blätter erscheinen oft dicker, stärker hervortretend und hellscheinend weiß. In diesem letzten Fall können speziell großlumige Zellen im Rindenparenchym der Adern nachgewiesen werden, welche die optische Wirkung der hellen Aderung verursachen.

Der Blattstiel kranker Pflanzen ist häufig gedreht und gewöhnlich dünner als an gesunden Pflanzen. Roos (13) hat von Schrumpfungen am Blattstiel berichtet. Es handelt sich um geschlängelte, leistenförmige Strangbildungen, die am Blattstiel, an Hauptadern und größeren Seitenadern vorkommen und sich als Proliferationen des Rindenparenchyms erweisen. Meistens sind bloß 3—5 knapp unter der Epidermis liegende Zellschichten daran beteiligt. Die betreffenden Zellen verlängern sich hauptsächlich in radialer Richtung und ordnen sich lockerer an. Diese Zellen enthalten mehr Chlorophyll als gewöhnlich. Es bleibt zu bemerken, daß durch Frostschäden ähnliche Wirkungen verursacht werden.

Querschnitte durch Blattstiele und Hauptadern kranker Pflanzen zeigen meistens eine ganze Reihe typischer Veränderungen. Der Umriß des Blattstielquerschnittes ist nicht rundlich und geschlossen wie bei gesunden Pflanzen, sondern breit, offen und oft deformiert. Für diese Veränderungen muß einesteils die abnorme Entwicklung bestimmter Rinderparenchymzellen, zur Hauptsache aber das veränderte Xylem verantwortlich gemacht werden.

Das kranke Xylem weist zahlreichere, aber englumigere, kleinere Gefäße mit eher dickeren Wänden auf. Während beispielsweise die größten Gefäßdurchmesser in Blattstielen kranker Bäume 11—17 μ betrugen, wurden an gesunden Bäumen derselben Sorte (Sauerhäner) Gefäßdurchmesser von 24—35 μ festgestellt. Im kranken Xylem sind sowohl mehr Gefäßreihen vorhanden wie auch die Zahl der Gefäße pro Reihe größer ist. Die Gefäßreihen sind zudem nicht in klarer radialer Anordnung vorhanden. Die Gefäße sind häufig in tangentialer Richtung zusammengedrückt und verformt worden.

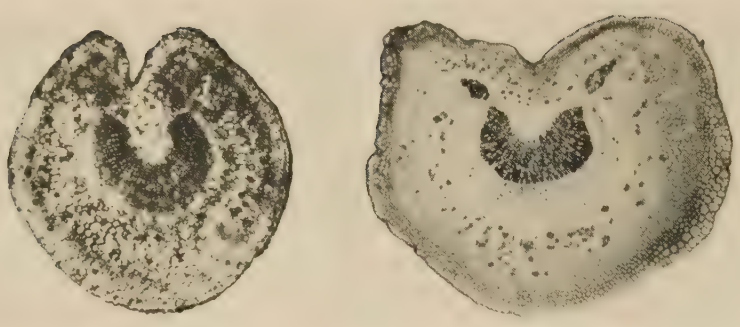


Abb. 2. Blattstiel-Querschnitte. Links gesund, rechts krank. Auffallend sind die Formveränderungen im Xylem und Gesamtumriß, sowie die Vergrößerung der Phloemzone

Neben der Ausweitung des Xylems äußert sich die große Gedrängtheit und der Platzmangel für die Gefäße auch an den zusammengedrückten Markstrahlzellen zwischen den Gefäßreihen. Manchmal ist ein Teil der Gefäße mit einer gummiartigen Masse verstopft.

Nach ROOS (13) ist die Pfeffingerkrankheit auch durch Phloemnekrosen gekennzeichnet. In unserem Untersuchungsmaterial konnten solche Nekrosen auch nachgewiesen werden, obschon diese Phloemveränderungen nicht so häufig sichtbar waren wie die Xylemveränderungen. Der Nachweis der Phloemnekrosen gelang nach der von SHEFFIELD (14) an viruskranken Kartoffeln ausprobierten Phloroglucin-HCl-Methode: Handschnitte werden auf einem Objektträger mit der Phloroglucinlösung (0,1 g Phloroglucin gelöst in 100 ccm 50%igem Alkohol) beträufelt. Nach 1 Minute wird die Flüssigkeit mittels Filtrierpapier aufgetrocknet und ein Tropfen verdünnte Salzsäure (HCl conc. : H_2O = 1 : 1) zugefügt. Das Xylem verfärbt sich purpurrot, die Bastfaserzellen im Pericyklus blaßrosa, während das Phloem in gesunden Blattstielen ungefärbt bleibt. In kranken Blattstielen erkennt man dagegen gelblichrot angefärbte Stellen im Primär-Phloem; es sind dies Zellkomplexe, die nekrotisch wurden.

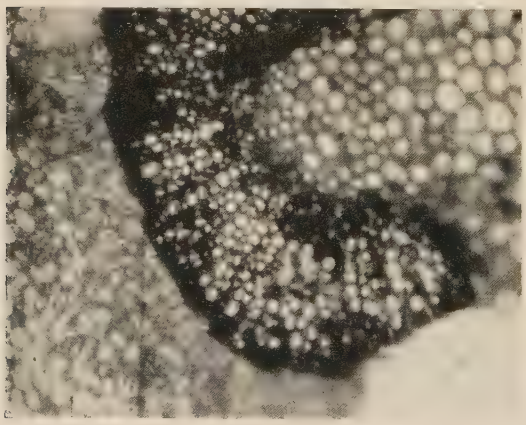


Abb. 3. Teilstück aus dem Xylem eines kranken Blattstiels (Querschnitt). Die Gefäße sind teilweise verformt und unregelmäßig angeordnet

In kranken Blattstielen sind Phloem und Pericyklus oft mächtiger ausgebildet als normal. Das Phloem weist ab und zu Lücken auf. Im Pericyklus konnten sporadisch verteilte

lignifizierte Zellen festgestellt werden. Zu erwähnen ist auch die schneller und kräftiger erfolgende Anfärbung der Schnitte viruskranken Materials mit Chlorzinkjod und verschiedenen Farbstoffen. Ob dies mit veränderten pH- oder rH-Werten der kranken Pflanze im Zusammenhang steht, bleibt noch abzuklären.

III. Auffallende Farbänderungen als Folge der Viruserkrankung

An den normalgroßen Blättern der Langtriebe treten Virussymptome in der Form von Ölflecken, Mosaik und Ringflecken auf. Die Frage ist noch nicht abgeklärt, in welchem Zusammenhang diese verschiedenen Erscheinungen stehen, ob es sich um variable Ausdrucksformen ein und desselben Erregers handelt (die Symptomreaktion ist verschieden je nach Sorte) oder ob hier ein Komplex mehrerer Virusarten oder Stämme vorliegt.

Die unter der Bezeichnung Ölflecken gehenden Primärsymptome äußern sich als relativ gut umgrenzte, geschlossene Stellen von olivgrüner Farbe an größeren Blattpartien. Diese Ölflecken entsprechen dem „mottling" in der englischen Terminologie. Mosaikkranke Blätter zeigen die verschiedensten Farbabstufungen. Neben glänzendgelben chlorotischen Flecken sind alle möglichen Farbübergänge zu normalgrünen Stellen und abnormal dunkelgrünen Zonen sichtbar. Die Mosaikflecken sind meistens kleiner als die Ölflecken; sie sind ohne Regel über das Blatt verteilt und sehr unregelmäßig zackig umgrenzt. An Blättern, die Ölflecken, Mosaik oder Ringflecken aufwiesen, hat sich gezeigt, daß die Blattquerschnitte in der hellen Zone dünner sind als an den normalgrünen Stellen. Dies wird vor allem verursacht durch die Verkürzung der Palisadenzellen und die Verengung der Schwammgewebeschicht. Einige Durchschnittszahlen sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefaßt:

Durchschnittliche Dicke der Gewebeschichten in μ

Art des Gewebes	Blätter mit Ölflecken		Blätter mit Mosaik	
	normalgrüne Stellen	kranke Stellen	normalgrüne Stellen	kranke Stellen
Obere Epidermis	36	34	25	21
Palisadengewebeschicht	80	61	70	52
Schwammgewebeschicht	96	80	59	45
Untere Epidermis	16	16	19	14
Totale Blattdicke	228	191	173	132

Die Chloroplasten in den Zellen hellverfärbter Blattpartien sind kleiner als normal, weisen unregelmäßige Umrisse auf und sind gelblich ausgebleicht. Einige Triebe mit mosaikkranken Blättern wurden versuchsweise in eine Eosinlösung gestellt. Während an normalgrünen Blattstellen die Farblösung im Xylem überall hin transportiert wurde, konnte an den ausgeprägten Mosaikstellen das Eosin nicht vordringen. Die Gefäße müssen demnach hier ihre Leitfähigkeit eingebüßt haben. Schon äußerlich ist zu sehen, daß an den Mosaikstellen die Seitenadern oft stark zurückgebildet sind. Die Mosaikzeichnung und die Ringflecken zeigen allgemein viel Ähnlichkeit mit dem von Berkeley (2) beschriebenen Mild Rugose Mosaik in Canada. Nur fehlen

bei letzterem gewisse typische Symptome der Pfeffingerkrankheit, wie die Bildung von Enations usw.

Eine weitere verdächtige Krankheitserscheinung wurde von W. SCHWARZENBACH an 3 Bäumen in Muttenz festgestellt. Die Blätter einzelner Äste sind stark deformiert und weisen oberseits eine milchigweiße Schlierenbildung auf. Dieser helle Überzug ist als Auflagerung der oberen Epidermis zu betrachten; er kann durch leichtes Schaben der Kutikula entfernt werden. Die ebenfalls vorhandenen Blattdeformationen stehen wahrscheinlich in engem Zusammenhang mit der starken Verkümmerung der Seitenadern. Ob diese Erscheinung mit der als Crinkle bezeichneten Kirschbaumkrankheit in den USA identisch ist, müßte noch nachgeprüft werden.

IV. Die Bildung von Enations und anderer abnormer Auswüchse am Blatt

An den Blättern viruskranker Pflanzen kommen manchmal Wucherungen vor, die in der Literatur bald als Intumeszenzen, bald als Enations bezeichnet werden. PENZIG (12) definiert den Begriff Enation folgendermaßen: „Bildung von Excrescenzen verschiedener Art auf der Oberfläche anderer Organe (Säume und kleine Spreiten auf Laubblättern)."

Unter E n a t i o n s versteht KÜSTER (11) auf der Unterseite der Spreiten längs der Nerven entstehende blattdünne, flügelartige Leisten, die ebenso wie die normale Blattspreite sich aus Epidermis und Mesophyll zusammensetzen und von Leitbündeln durchzogen werden. Ihre anatomische Zusammensetzung entspricht im allgemeinen der des normalen Blattes, doch können auch bescheidene Strukturdifferenzen bemerkbar werden. Unter dem Begriff I n t u m e s z e n z e n versteht der gleiche Autor Zellwucherungen, die nur an begrenzten Stellen, aber blattoberseits und unterseits, auftreten. Ihr Ursprung liegt im Mesophyll, wo die Zellen sich senkrecht zur Blattfläche strecken und oft das 2—3fache normaler Länge erreichen, so daß die Epidermis gehoben oder evtl. gesprengt wird.

An den von der Pfeffingerkrankheit befallenen Kirschbäumen können Blätter festgestellt werden, die unterseits typische Enations aufweisen. Im Gegensatz zu den von KERLING (9) an Tabak untersuchten Enations kommt bei der Pfeffingerkrankheit nur ausnahmsweise ein enges Zusammenwachsen der Enations mit den Hauptadern vor. Gewöhnlich entstehen die Enations in der Nähe der Hauptadern über kleinen Seitenadern der Blattspreite. Man kann annehmen, daß das krankmachende Agens an bestimmten Stellen abnormale Wachstumsvorgänge einleitet (intensivierte Zellteilung, Zellstreckung usw.), die zu diesen Mißbildungen führen.

Die ersten Anzeichen der Entstehung von Enations sind daran zu erkennen, daß die der unteren Epidermis anliegenden Zellen des Schwammparenchyms sich enger aneinandergereiht haben und daß darin mehr Chloroplasten festgestellt werden können. Ohne daß vorerst irgendwelche Aufwölbungen sichtbar sein müssen, werden in der Durchsicht am Blatt bereits klar abgegrenzte Stellen intensiver Grünfärbung mit bloßem Auge erkannt.

Von einem fortgeschritteneren Stadium kann man sprechen, falls blattunterseits ein zweites Palisadengewebe gebildet wird. Vorerst sind die daran beteiligten Zellen noch mehr oder weniger isodiametrisch, sie verlängern sich späterhin und stellen sich senkrecht zur unteren Epidermis ein. Es wird oft eine zweite und evtl. eine dritte Zellreihe solcher Palisadenzellen ausgebildet.

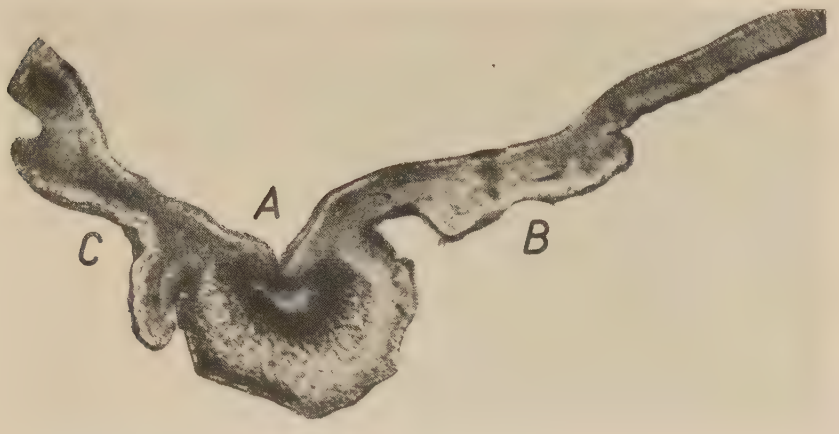


Abb. 4. Die Bildung von Enations auf der Blattunterseite.
A Mittelrippe. B Beginnende Ausstülpung an der Blattfläche. C Enations fertig ausgebildet als doppelseitig umgestülpte Blattlappen

Das ursprüngliche Schwammgewebe kann an diesen Stellen unter Umständen fast völlig unterdrückt werden und das untere Palisadengewebe schließt sich dem oberen an. Meistens verschwindet das Schwammgewebe nicht, aber dessen Zellen rücken näher zusammen und die Interzellularen verengern sich. Oft kommt aber auch ein vergrößertes, normalscheinendes Schwammgewebe vor. Manchmal vergrößern sich die Interzellularen in abnormer Weise.

Mit der Bildung der neuen Palisadengewebeschicht sind an der Unterseite blattartige Vorwölbungen entstanden. Die Gewebe in diesen Auswüchsen differenzieren sich in der Folge wieder in obere und untere Epidermis, Palisaden- und Schwammgewebeschicht und sie führen auch Leitelemente in sich. Die Auswüchse biegen sich oft waagerecht um, so daß die morphologische Blattunterseite des neuen, gegen die Blattunterseite des ursprünglichen Blattes zu liegen kommt. An der Epidermis der Enations können normale Spaltöffnungen festgestellt werden. Die Enations können bis auf 3 mm Länge vorstehen, sie laufen meistens als blattartige Parallelreihen den Adern entlang, können aber auch als Ringwälle oder einzelstehende Lappen an der Blattspreite auftreten.

Eine weitere Form pathologischer Auswüchse, Drüsenköpfchen genannt, wird vornehmlich blattunterseits, ausnahmsweise auch oberseits, gebildet.

Diese Drüsenköpfchen sitzen in der Regel den Seitenadern 2. und 3. Ordnung auf und erreichen eine Länge von 1—3 mm, bei einem Durchmesser von $^1/_4$—$^1/_2$ mm. Der längere basale Teil enthält meistens chlorophyllführende Zellen. Das etwa $^1/_3$ mm messende Köpfchen besteht aus kleinen, dunkelbraun gefärbten gummiartigen Zellen von der Beschaffenheit wie sie auch an den Zähnen des Blattrandes vorkommen. Am Aufbau dieser Drüsenköpfchen sind nicht bloß die epidermalen Zellschichten beteiligt. Kräftig gebaute Leitelemente durchdringen die Auswüchse, wie dies durch die Abb. 6 deutlich sichtbar gemacht wird.

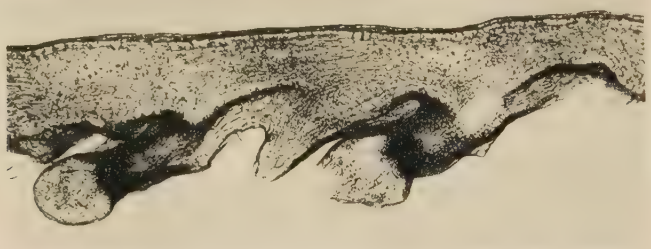


Abb. 5. Die Entstehung von Drüsenköpfchen

Die Drüsenköpfchen sind möglicherweise als Aderendigungen aufzufassen, die in abnormer Weise verstärkt worden sind und Anastomosen gebildet haben. Es gibt Blätter, die zugleich Drüsenköpfchen auf den Adern, eine verstärkte Ausbildung gummiartiger Zähne am Blattrand und verlängerte extraflorale Nektarien am Blattstiel aufweisen. Dabei können auffallenderweise alle möglichen Übergangsformen zwischen diesen drei Gebilden auftreten. Man ist versucht, von homologen Bildungen zu sprechen. Da die anatomische Untersuchung keine prinzipiellen Unterschiede zutage förderte, wohl aber viele gleichsinnige Entwicklungen, liegt die Vermutung nahe, daß hier eine Ausbildung von Organen vorliegt, welchen

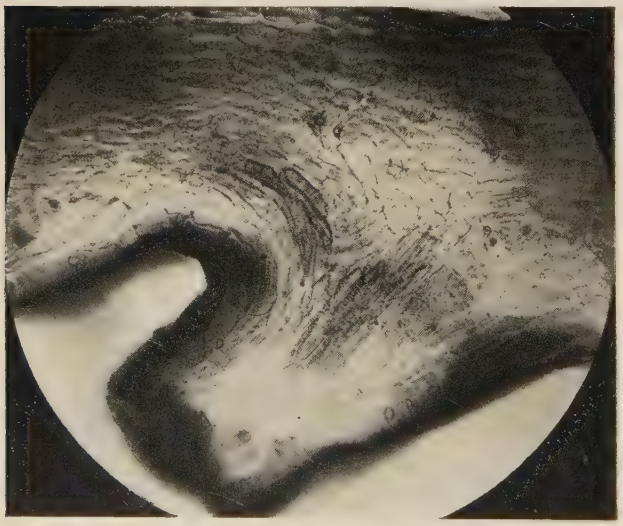


Abb. 6. Die Entstehung von Drüsenköpfchen. Kräftig ausgebildete Leitelemente dringen in die Auswüchse hinein

funktionell die gleiche Aufgabe zufallen würde, nämlich die Ausscheidung überflüssigen Bildungssaftes. Eine Sekretion ist indessen nirgends festgestellt worden.

Rein epidermale Wucherungen wurden an Blättern kranker Bäume auch festgestellt. An der Blattspreite und vor allem an den Adern ist oft eine extrem verstärkte Haarbildung nachzuweisen. Warzenartige Fortsätze auf den Adern treten auch gelegentlich auf. Es kommen also sowohl organoide (Enations, Drüsenköpfchen) wie histoide Wucherungen (Haare, Warzen) vor.

V. Die Veränderungen der extrafloralen Nektarien

Eine zahlenmäßige Vermehrung extrafloraler Nektarien an Blattstielen viruskranker Kirschbäume ist schon von Roos erwähnt und durch Kundert als statistisch gesichert nachgewiesen worden. Eigene Auszählungen bestätigen diese Befunde. An einem Blattstiel der Sorte Basler Langstieler sind 17 extraflorale Nektarien gezählt worden. Diese Vermehrung ist indessen nur an Blättern der jüngsten Triebe festzustellen. An den Blättern der Kurztriebe des älteren Holzes werden die extrafloralen Nektarien gewöhnlich in Anzahl und Größe zurückgebildet und Form und Farbe derselben ist verändert. Sie sind an gesunden Blättern der Sorte Basler Langstieler beispielsweise 1,2 mm lang, 0,9, mm breit und 0,5 mm hoch, also etwas langgezogen in der Form. Kranke Blätter wiesen Maßzahlen auf von 0,4 × 0,4 × 0,4 mm; die extrafloralen Nektarien sind demnach hier viel kleiner und von kugeliger Form. Für die extrafloralen Nektarien kranker Blätter ist auch die schwärzliche Färbung charakteristisch. Im Querschnitt zeigen sich kleinlumige Zellen und im Längsschnitt muß man eine geringere Anzahl derselben feststellen. Die äußerste, dunkelgefärbte Gewebeschicht umfaßt 15—20 Zellagen und ist scharf abgegrenzt gegenüber den inneren helleren Zellen. Die dunkle Gewebezone an extrafloralen Nektarien gesunder Blätter umfaßt bloß 5 bis 10 Zellagen und die dunkelbraune Färbung ist nur in den äußersten Zellagen festzustellen. Weitere anatomische Unterschiede konnten nicht nachgewiesen werden zwischen extrafloralen Nektarien gesunder und kranker Blätter. Da in den letzteren auch normale Leitelemente festgestellt wurden, sollte ein Sezernieren der extrafloralen Nektarien kranker Blätter auch möglich sein.

Abb. 7. Die abnorme Ausbildung der extrafloralen Nektarien. Links: Erhöhte Anzahl. Mitte: Auswachsen zu Laubblättchen. Rechts: Normal

An den Blattstielen kranker Pflanzen wachsen die extrafloralen Nektarien manchmal zu laubartigen Gebilden aus. Ab und zu werden sie auch stielförmig verlängert und tragen Drüsenköpfchen an der Spitze.

Da sich gewisse Sortenunterschiede zeigen und die Umweltsbedingungen einen großen Einfluß ausüben, kann der Veränderung der extrafloralen Nektarien keine große diagnostische Bedeutung zukommen.

VI. Das Auftreten der Symptome bei verschiedenen Sorten

Die Abklärung der sortenbedingten Unterschiede der Symptome muß mit vielen Schwierigkeiten rechnen. In erster Linie stellt sich die Frage, welche Symptome bloß Ausdruck des Krankheits s t a d i u m s sind. In einem von S. BLUMER durchgeführten Symptomnachweisversuch, der darin bestand, daß gesunde Reiser von mehr als 20 Sorten auf kranke Unterlagen gepfropft wurden, traten im 1. Jahr nach der Pfropfung die typischen Symptome der Pfeffingerkrankheit relativ stark auf. Im 2. Jahr zeigten sich an denselben Pfropfungen nur noch einzelne wenige Symptome. Ein späteres Stadium der Krankheit machte sich geltend. Der Grund mag zum Teil darin liegen, daß weniger neue Langtriebe gebildet wurden, was an und für sich schon als Spätsymptom aufzufassen ist. Das Auseinanderhalten von Primär- und Sekundärsymptomen ist freilich aus dem Grunde nicht einfach, weil noch nicht feststeht, wie sich verschiedene Quantitäten des Virus äußern. Ein unterschiedliches Wachstum von Pflanzenteilen resultiert in veränderter Symptomausprägung. Am Langtrieb erscheinen andere Symptome als am Kurztrieb. Der Langtrieb ist neues, diesjähriges Holz, und hier findet also alljährlich eine Neuinfektion statt. Beim Steinobst ist zwar auch der Kurztrieb neues, diesjähriges Holz. Die Volumenzunahme ist jedoch so gering, daß die Konzentration des Virus hier relativ höher sein kann, als dies beim Langtrieb der Fall ist. Ein von Natur aus schwachwachsender Wildling braucht bei einer Neuinfektion die Primärsymptome theoretisch gar nicht zu zeigen. Falls zudem eine Sorte vorliegt, welche die Symptome ohnehin undeutlich zeigt, kann bei einem solchen Baum die Krankheit überhaupt maskiert werden.

Bestimmte Symptome sind je nach Jahreszeit und Jahreswitterung verschieden stark ausgeprägt. Die Ölflecken und das Mosaik können während der ganzen Vegetationsperiode auftreten, aber zeitweise auch wieder verschwinden. Die Kleinblättrigkeit fällt im Frühjahr und Sommer besonders deutlich auf. Die gestörte Aderung und die abnorme Zähnung wurden vor allem im Juni und im Spätherbst beobachtet. Die Enationsbildung ist gegen den Herbst zu am besten sichtbar. Die Rosettenbildung erfährt zwei Höhepunkte, nämlich im Juni als Abschlußphase des Frühjahrstriebes und im Spätsommer als Abschlußphase des Johannistriebes. In heißen, trockenen Jahren müssen wir mit einer Maskierung der Symptome rechnen.

An Hand der von S. BLUMER gesammelten Aufzeichnungen und eigener Beobachtungen wurde geprüft, ob Sorten vorkommen, welche einzelne Symptome wie Ölflecken, Mosaik, Enations, Aderveränderung, Deformation,

Schmal- und Kleinblättrigkeit, abnorme Zähnung, degenerierte extraflorale Nektarien und Rosettenbildung nicht zeigen. An 6 Süßkirschen- und 3 Sauerkirschensorten konnten einzelne der erwähnten Symptome nicht festgestellt werden. So waren beispielsweise an Sauerkirschensorten nie Enations nachzuweisen. Ein Beweis, daß bestimmte Symptome an gewissen Süßkirschensorten nicht aufzutreten vermögen, ist noch nicht geliefert worden. Ein erweitertes Beobachtungsmaterial wäre hierzu notwendig. An 13 Sorten, darunter Bing, Hedelfinger, Gravium, Sauerhäner, Rigi, Mischler, Basler Langstieler und Basler Adler sind alle vorgenannten Krankheitssymptome nachgewiesen worden.

Sortenunterschiede machen sich wahrscheinlich mehr in quantitativer als in qualitativer Hinsicht geltend. Es kommt nicht in erster Linie auf das Fehlen oder Vorhandensein bestimmter Symptome als vielmehr auf die mehr oder weniger starke Ausprägung derselben an. Unter die Kategorie der Sorten mit undeutlicher Ausprägung der Symptome fielen beispielsweise die Erstfrühe, Zweitfrühe, Rote Lauber, Muskateller, Rigi, Sauerhäner und Späte Holinger. Durchwegs deutliche Symptome sind an den Sorten Bing und Späte Kracher aufgetreten. Bestimmte Sorten scheinen durch das Virus schneller abgetötet zu werden, zum Beispiel Bing, Hedelfinger und Gravium. Es sind dies die anspruchsvolleren, empfindlicheren Qualitätssorten. Das würde mit den Beobachtungen von W. Schwarzenbach übereinstimmen, daß im Gebiet von Muttenz die edleren Sorten verschwinden und die halbwilden Sorten übrig bleiben. Vorläufig bestehen keine Anhaltspunkte, daß symptomlose Träger (Carriers) vorkommen. Allerdings wäre der sichere Nachweis nur mit verfeinerten Methoden der Diagnostik zu erbringen.

Diskussion

An viruskranken Pflanzen treten nach K. Esau (6) folgende drei fundamentalen anatomischen Änderungen auf:

1. Degeneration bestimmter Zellen oder Zellgruppen, welche zur Nekrosis führt.
2. Hyperplasien, gefolgt von Hypertrophien.
3. Hypoplasien.

Die symptomatologische Untersuchung hat gezeigt, daß auch bei der als Pfeffingerkrankheit bezeichneten Virose der Kirschbäume alle diese Abnormitäten zum Ausdruck kommen. Als Degeneration bestimmter Zellen und Zellgruppen sind die Phloemnekrosen und die Rückbildung bestimmter Adern anzusprechen. Die Entstehung verschiedener Auswüchse muß man als Hyperplasien und Hypertrophien betrachten. Hypoplasien stellen wir an Zellgruppen der Blätter mit Ölflecken und Mosaik fest, da hier eine lokale Verkürzung von Zellen stattgefunden hat. Die Erklärung der verschiedenen Abnormitäten ist keine einfache Angelegenheit. Einesteils lassen die Erscheinungen der mangelnden Wuchskraft der Triebe, der Kleinblättrigkeit, Aderverkümmerung usw. die Überzeugung aufkommen, daß bestimmte Teile der

Pflanze unterernährt sind. (Der Begriff Ernährung wäre hier im weitesten Sinne des Wortes aufzufassen. Er würde sowohl die Versorgung mit den bekannten Bau- und Hilfsstoffen wie auch den Hormonhaushalt in sich schließen.) Anderseits sprechen die übergroßen Blätter an Neutrieben, die vermehrte Zahl extrafloraler Nektarien, die Enations- und Drüsenköpfchenbildungen eher für eine lokale Überernährung. Beide Deutungen finden eine Stütze, falls wir berücksichtigen, daß in erster Linie die Leitelemente geschädigt worden sind und der Stofftransport somit nur mangelhaft vor sich gehen kann. Die Phloemnekrosen und die Xylemveränderungen sind in dieser Richtung zu werten. Einen direkten Beweis für die Schädigung des Xylems fanden wir in dem Fall, da der Eosinfarbstoff in den mosaikbefallenen Blattstellen nicht zirkuliert hat. BAWDEN (1) hat festgestellt, daß das Virus bestimmte, für eine Stoffleitung unentbehrliche Plasmastränge in den Geleitzellen der Gefäße zerstören kann. Daß bei bestimmten Viruskrankheiten (Pierces disease der Reben, Phony peach) in erster Linie das Xylem geschädigt wird, hat K. ESAU (5) klar dargestellt. Für die Pfeffingerkrankheit konnte bislang noch nicht ermittelt werden, ob zuerst das Phloem oder das Xylem geschädigt wird. An Blattstielquerschnitten äußerlich symptomloser, aber nachweisbar infizierter Blätter sind viel häufiger Xylemveränderungen nachgewiesen worden als Phloemnekrosen. Dieser Umstand könnte einen Ansatzpunkt bieten bei der Ausarbeitung einer Methode zur Ermittlung kranker Bäume, die äußerlich keine Symptome zeigen.

Die Entstehung von Enations ist auch bei der als „Rasp leaf" benannten Viruskrankheit der Kirschen in Amerika bekannt (4). Auch an anderen viruskranken Pflanzen, wie Tabak, Tomate, Erbse, *Lathyrus odoratus* und *Vicia faba* treten Enations auf (15). Eine gute Beschreibung der Enations an der Tabakpflanze hat KERLING (9) gegeben. Auch an Tabak wird an Stelle des Schwammparenchyms ein neues Palisadengewebe gebildet. Die Entstehung der Enations erfolgt hier direkt auf den Adern. Da bei der Pfeffingerkrankheit die Drüsenköpfchenbildung auch direkt über den Adern erfolgt und die Enationsbildung meistens in nächster Nähe der Adern vor sich geht, liegt der Schluß nahe, daß der Entwicklungsreiz zu diesen abnormen Auswüchsen von den Leitbahnen aus geht und evtl. durch einen Überschuß von Baustoffen oder Wuchsstoffen verursacht wird. Nach KÖHLER (10) wurde bei verschiedenen Viruskrankheiten eine Anreicherung von Stärke in den Blättern festgestellt. Diese Stärkeschoppung soll die Folge eines Versagens des Ableitungsmechanismus sein. Trotz wiederholter Kontrollen war in den Blättern viruskranker Kirschbäume kein solches Verhalten nachweisbar.

Über die Veränderungen an den extrafloralen Nektarien läßt sich umso weniger etwas Schlüssiges sagen, als die Bedeutung der extrafloralen Nektarien selbst an gesunden Pflanzen noch nicht restlos abgeklärt ist. Nach HEGI (8) sind die extrafloralen Nektarien bei verschiedenen Prunusarten als im Laufe der Stammesentwicklung umgewandelte Fiederblättchen zu betrachten. Diese Ansicht erfährt durch das an viruskranken Bäumen beobachtete gelegentliche Wiederauswachsen der extrafloralen Nektarien zu kleinen Laubblättchen eine

neue Stütze. Frey-Wyssling (7) hat die physiologische Bedeutung der extrafloralen Nektarien an *Hevea brasiliensis* untersucht und kam zu der Erkenntnis, daß diese eine Rolle spielen bei der Regelung des aufsteigenden Saftstromes in jungen Organen. Die extrafloralen Nektarien seien den Hydathoden homolog. Physiologisch bestehe kein prinzipieller Unterschied zwischen extrafloralen Nektarien und Hydathoden. Der Nektar sei hier eine Ausscheidung überflüssigen Bildungssaftes und die Sekretion erfolge an Stellen, wo der aufsteigende Saftstrom wahrscheinlich gestaut werde. Der Nektar stamme immer aus dem Stamm und sei somit kein Assimilationsprodukt des Blattes. Der Zuckergehalt des Nektars soll etwas Sekundäres, Beiläufiges sein, da er ja in Stärke übergeführt werden könnte.

Diese zwei Deutungen der Rolle der extrafloralen Nektarien schließen einander nicht aus. Man kann sich die extrafloralen Nektarien gut als Rudimente zurückgebildeter Blatteile und zugleich als zufällig sezernierende Saftventile vorstellen. Da es sich hier um von Natur aus sehr variable Bildungen handelt, ist die geringe diagnostische Bedeutung veränderter extrafloraler Nektarien leicht verständlich.

Zusammenfassung

1. Es werden die durch die Pfeffinger-Viruskrankheit der Kirschbäume verursachten morphologischen und anatomischen Blattveränderungen beschrieben und diskutiert.
2. Die Deformationen und der veränderte Aufbau des Blattes müssen in erster Linie als eine Folge der krankhaften Aderveränderungen angesehen werden. Die Phloemnekrosis in den Leitelementen von Blatt und Blattstiel ist mit der Phloroglucin-Salzsäure-Methode nachweisbar. Bestimmten pathologischen Veränderungen im Xylem kommt möglicherweise eine größere diagnostische Bedeutung zu als den Phloemnekrosen, jedenfalls waren erstere häufiger nachzuweisen.
3. Verschiedene Farbveränderungen am Blatt, wie Ölflecken, Mosaik und Ringflecken werden beschrieben.
4. Die Entstehungsweise von Enations und anderer pathologischer Auswüchse am Blatt wird skizziert.
5. Den durch die Viruskrankheit verursachten Veränderungen an den extrafloralen Nektarien konnte keine sichere diagnostische Bedeutung zugeschrieben werden.
6. Die sortenbedingten Unterschiede der Symptome sind viel mehr quantitativer als qualitativer Natur. Es scheint, daß die Qualitätssorten der Krankheit schneller erliegen als das für minderwertige Sorten der Fall ist. Vollresistente Sorten und symptomlose Überträger wurden bis jetzt nicht entdeckt.

Summary

1. The effects of a cherry virus disease, called Pfeffinger-disease, to the morphological and anatomical structures of cherry leaves were studied.

2. The deformations and some other alterations of the leaves are mainly due to several pathological changes in the veins. A positive test with phloroglucinol and hydrochloric acid for phloemnecrosis in leaf petioles and veins gave fairly good results. Some pathological changes in the xylem are more frequent than phloemnecrosis. This fact could possibly be of better diagnostic value as it is with phloemnecrosis.
3. Several typical colour-abnormities of the leaves, like mottling, mosaic and ringspot are mentioned.
4. Origin and development of leaf enations and other pathological excrescences have been discussed.
5. There is no indication to present that the alterations of extrafloral nectaries on virus diseased sweet cherry leaves are of diagnostic value.
6. There is no proof that some of the varieties are lacking the typical virus symptoms, but several varieties may have a lower or higher degree of symptom expression. Varieties of high fruit quality show a quicker decline than such of inferior quality. No full resistent varieties or symptomless carriers of this virus disease have been detected yet.

Literatur

1. Bawden, F. C., Plant Viruses and Virus Diseases. Chronica Botanica Company Waltham, Mass., U.S.A. 1943.
2. Berkeley, G. H., Mild Rugose Mosaic of Sweet Cherry in Canada. Phytopathology Vol. 40, p. 992—998, 1950.
3. Blumer, S. und Geering, J., Das Kirschbaumsterben im Baselland. (Pfeffingerkrankheit). Phytopathologische Zeitschrift, Bd. XVI, (1950), S. 300—335.
4. Bodine, E. W. and Newton, J. H., The Rasp Leaf of Cherry. Phytopathology **32**, p. 333—335, 1942.
5. Esau, Katherine, Anatomic Effects of the Viruses of Pierce's Disease and Phony Peach. Hilgardia No. 12, Vol. 18, 1948.
6. — —, Pathologic Changes in the Anatomy of Leaves of the Sugar Beet, *Beta Vulgaris* L. Affected by Curly Top. Phytopathology Vol. **23**, p. 679—710, 1933.
7. Frey-Wyssling, A., Über die physiologische Bedeutung der extrafloralen Nektarien von Hevea brasiliensis. Berichte der Schweiz. Bot. Ges. Bd. 42, Heft 1, 1933.
8. Hegi, G., Illustrierte Flora Mitteleuropas. Bd. 4, II S. 1078.
9. Kerling, L. C. P., The Anatomy of the „Kroepoek-Diseased" Leaf of Nicotiana Tabacum and of Zinnia-Elegans. Phytopathology Vol. **23**, p. 175—190, 1933.
10. Köhler, E. in Sorauer, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. I, 2. Teil, 6. Auflage.
11. Küster, E., Patholog. Pflanzenanatomie, Fischer, Jena, 1916, S. 44.
12. Penzig, O., Pflanzen-Teratologie, Bd. I, 1890.
13. Roos, K., Das Kirschbaumsterben im Baselland. Landw. Jahrbuch der Schweiz **52**, 596—617, 1938, **53**, 233—258, 1939, **60**, 500—520, 1946.
14. Sheffield, F. M. L., Value of Phloem Necrosis in the Diagnosis of Potato Leaf-Roll. Ann. Appl. Biology 30, p. 131—136, 1943.
15. Smith, Kenneth, M., Virus Diseases of Farm and Garden Crops, Littlebury and Company Ltd. Worcester 1947.

Aus der Eidg. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil
Direktor: Prof. Dr. F. Kobel

Die Inaktivierung des gelösten Kupfers (II) in Fungiziden

Von

W. Biedermann und E. Müller

Mit 8 Abbildungen

Inhaltsübersicht: I. Einleitung. II. Methodik und biologische Grundlagen. III. Keimung in Gegenwart von Zusätzen: 1. Cu^{+2}-Salze; 2. Cu + Kationen; 3. Cu + Komplexbildner; 4. Cu + Traubensaft; 5. Cu + Blattdialysate; 6. $CuSO_4 + Ca(OH)_2$ (Bordeauxbrühe). IV. Diskussion und Zusammenfassung. — Literatur.

Die vorliegende Arbeit entstand durch engen Kontakt von Chemiker und Botaniker. Herrn *Prof. Dr. Kobel* sei für die Ermöglichung dieser Zusammenarbeit bestens gedankt.

I. Einleitung

Kupferfungizide spielen in der landwirtschaftlichen Praxis auch heute noch eine bedeutende Rolle. Obschon über die Zusammensetzung, Anwendung und über die Wirkungsweise von Kupferspritzmitteln schon sehr viel publiziert worden ist, bestehen in manchen Punkten noch Meinungsverschiedenheiten und Unklarheiten. Die vorliegende Arbeit bildet einen Beitrag zur Chemie und Physiologie der Kupferfungizide.

a) Availability

Die meisten Cu-Fungizide enthalten ihr Kupfer in festgebundener Form, nämlich als Hydroxyd, als basisches Sulfat, als basisches Chlorid usw. Auf die zu schützende Pflanze gespritzt, vermögen sie deshalb kaum eine Wirkung auf die pflanzen-pathogenen Pilze auszuüben. Vielmehr muß der Spritzbelag durch äußere Einflüsse zuerst in einen wirksamen Zustand übergeführt werden. Zur Unterscheidung von wirksamem und unwirksamem Kupfer wird der Begriff der „availability" (Verfügbarkeit) verwendet. Der Ausdruck stammt aus der Bodenchemie und beruht auf der Erfahrung, daß ein Element in hinreichender Menge anwesend sein kann, ohne jedoch seine physiologische Wirkung voll zu entfalten.

Auf dem Gebiet der Cu-Fungizide stimmen die meisten Autoren (z. B. Martin, 1940; Horsfall, 1945; McCallan, 1949) darin überein, daß in erster Linie das lösliche Kupfer wirksam sei. Man trennt deshalb den Spritzbelag in die unlösliche, unwirksame Reserve und in den löslichen An-

teil, welcher für die Wirkung gegen Pilzbefall als verfügbar (available) betrachtet wird.

b) Kupferlösungstheorien

Im Laufe der letzten 60 Jahre wurde eine größere Zahl von Hypothesen aufgestellt, welche die Überführung des gebundenen Kupfers in eine lösliche Form erklären sollten. Von diesen Theorien stehen heute nur noch 3 ernsthaft zur Diskussion:

1. Die CO_2-Theorie: Schon MILLARDET (1887) nahm an, daß die Kohlensäure der Luft zur Auflösung von kleinen Cu-Mengen ausreiche. SCHMIDT (1924) hat diese Ansicht durch schöne Versuche gut unterbaut. Später wurde die Theorie vor allem durch MCCALLAN (1930) angegriffen.
2. Andere Autoren behaupten, daß das Cu durch Blattausscheidungen gelöst werde. Diese Ansicht geht auf BARTH (1896) zurück und wurde in neuerer Zeit z. B. von CURTIS (1944) vertreten.
3. Die Selbstmordtheorie: RUHLAND (1905) vermutete, daß das Cu durch Ausscheidungen der keimenden Pilzspore gelöst werde. Die Spore würde sich gleichsam selbst vergiften. Heute wird diese Theorie besonders durch MCCALLAN (1930, 1949) vertreten.

c) Inaktivierung des gelösten Kupfers

Mit der vorliegenden Arbeit möchten wir zeigen, daß sich die Frage der Verfügbarkeit (availability) mit keiner dieser Lösungstheorien befriedigend behandeln läßt. Die Auflösung des Kupfers ist zwar eine notwendige, jedoch nicht hinreichende Voraussetzung für seine Wirksamkeit als Fungizid. Denn das Kupfer kann, auch wenn es in gelöstem Zustand vorliegt, weiterhin inaktiv bleiben. Als inaktivierende Substanzen wurden einerseits Antagonisten, andrerseits Komplexbildner nachgewiesen. Wohl haben schon R. W. MARSH (1936) sowie BLUMER und KUNDERT (1950) Beobachtungen publiziert, nach denen Cu-Fungizide auf Glas besser wirken als im Feldversuch. Die Ursachen dieser Unterschiede blieben jedoch bis heute unabgeklärt.

Der Einblick in diese Zusammenhänge ermöglicht es, den Begriff „Verfügbarkeit" besser zu verstehen.

II. Methodik

Die Abklärung unserer Probleme suchten wir mit Hilfe von Sporenkeimtesten, wobei wir als Testpilz *Alternaria tenuis* benützten, und zwar denselben Stamm, der in unserm Laboratorium bei der Prüfung technischer Pilzgifte Verwendung findet (z. B. CIFERRI, 1944; BLUMER und KUNDERT, 1949, 1950). Dieser Pilz weist verschiedene Vorteile auf, die ihn als Testobjekt ganz besonders geeignet machen. Einmal produziert er schon innerhalb 4 Tagen auf Karottenagar (2% Agar-agar + 5% Karottenpreßsaft)

eine große Zahl von Konidien. Dann besitzt der Pilz braungefärbte, relativ große Sporen, die sich gut zählen lassen. Auch vermag er rasch, d. h. innerhalb 12 Stunden deutlich wahrnehmbare Keimschläuche zu bilden (Tab. 1), und in destilliertem Wasser beträgt seine Keimfähigkeit 90—100 %, meist 94—98 %. Es hat sich auch gezeigt, daß seine Kupferempfindlichkeit einen weitgehend konstanten Wert beibehalten kann (vgl. auch BLUMER und KUNDERT, 1950).

Tabelle 1

Der Keimungsablauf bei Konidien von *Alternaria tenuis* in destilliertem Wasser

Auszählung nach Std.	Keimung in %
0	0
1	0
2	15
3	38
4	66
5	80
6	88
7	93
9	93
24	96

Für den Test verwendeten wir in der Mehrzahl der Fälle Sporensuspensionen. Wir gingen dabei so vor, daß wir der Kultur mit Hilfe einer Nadel Sporen entnahmen und diese in eine Embryoschale mit Wasser brachten. Meistens benützten wir doppelt destilliertes Wasser. Zur guten Mischung bliesen wir mit einer Pipette etwas Luft durch die Suspension und prüften dann deren Dichte unter dem Mikroskop durch Auszählen der Sporen. Wir stellten die Dichte auf etwa 30 000 Sporen pro cm^3 ein (vgl. BLUMER und KUNDERT, 1950, p. 192).

Beim eigentlichen Keimtest gaben wir auf einen gut gereinigten und vor allem entfetteten Objektträger mit einer Pipette 2 getrennte Tropfen der Sporensuspension. Die Objektträger legten wir in Glasschalen, die oben und unten mit feuchtem Filtrierpapier ausgeschlagen waren. Nach erfolgter Keimung — am nächsten Tag — zählten wir die Tropfen aus, und zwar zählten wir in jedem der beiden Tropfen je 100 Sporen. Von diesen 200 Sporen drücken wir jeweils die Zahl der gekeimten in % aus.

Um die Wirkung von Zusätzen, z. B. Kupfersulfat zu prüfen, wurden 2 getrennte Tropfen Sporensuspension auf einen Objektträger gebracht. Mit derselben Pipette setzten wir jedem dieser Tropfen einen gleich großen Tropfen an $CuSO_4$-Lösung zu und vermischten sorgfältig mittels eines Glasstäbchens.

Beim Zusammengeben von 1 Tropfen Sporensuspension und 1 Tropfen $CuSO_4$-Lösung sinkt die Konzentration des $CuSO_4$ auf den halben Wert. Die $CuSO_4$-Lösung muß also in doppelter Konzentration vorbereitet werden. Es ist selbstverständlich, daß sich alle in dieser Publikation angegebenen Konzentrationen auf das endgültige, also verdünnte Tropfengemisch beziehen.

Um irgendwelchen Einwänden bezüglich der Genauigkeit dieses Verdünnungsverfahrens begegnen zu können, haben wir die Gewichte nacheinander fallen gelassener Tropfen gemessen (Tab. 2). Für eine gute Reproduzierbarkeit der Tropfengröße ist die senkrechte Haltung der Pipette von ausschlaggebender Bedeutung.

Eine Auswertung dieser Wägungen ergibt, daß nach Vermischen zweier Tropfen unter ungünstigsten Umständen ein Fehler in der Konzentration von 4% resultiert. Dieser Fall tritt jedoch nur sehr selten ein; normalerweise wird der Fehler nur etwa 1% betragen.

Tabelle 2

Tropfengewichte bei senkrecht gehaltener Pipette

Tropfen Nr.	Gewicht in mgr	Tropfen Nr.	Gewicht in mgr
1	21,1	11	20,7
2	20,2	12	21,4
3	21,4	13	20,7
4	21,3	14	20,6
5	21,6	15	21,0
6	20,8	16	20,8
7	21,5	17	21,0
8	21,0	18	20,4
9	20,8	19	20,8
10	21,2	20	21,3

Im Hinblick auf die übrigen Versuchsfehler (biologische Streuung) bleibt diese Abweichung ohne jegliche Bedeutung.

Als weitere Vorbereitung schien es uns notwendig, die Einflüsse von Temperatur und Wasserstoffionenkonzentration auf die Sporenkeimung zu prüfen. Es hat sich dabei gezeigt, daß im Bereich von pH 3 bis pH 10 praktisch keine Behinderung der Sporenkeimung beobachtet werden kann. Werte unter pH 3 allerdings vermöchten die Keimfähigkeit wesentlich zu vermindern. Wir haben deshalb pH-Werte unter 3,5 vermieden (vgl. auch p 314).

Auch in bezug auf die Temperatur ist der Pilz wenig wählerisch. In einem breiten Band von 9° bis 30° C erfolgt die Keimung zu über 90%, so daß wir auch auf die Versuchstemperaturen keine Rücksicht zu nehmen brauchten.

Bei sämtlichen Kurven und Tabellen dieser Arbeit wurde die Reproduzierbarkeit durch mindestens einmalige Versuchswiederholung nachgeprüft.

III. Keimung in Gegenwart von Zusätzen

Um bei diesen Versuchen allfällige Störungen, verursacht durch geringe Verunreinigungen, auszuschließen, haben wir für die Zusätze stets nur reinste Präparate (Merck usw.) verwendet.

1. Cu^{+2}-Salze

Läßt man die Sporen in Gegenwart von Cu^{+2}-Salzen keimen, so treten mit steigender Cu-Konzentration Keimungshemmungen auf. Fig. 1 zeigt eine solche Versuchsreihe.

Als Ordinate wurde die Keimung in % aufgetragen; die Abszisse enthält die zugehörigen Cu-Konzentrationen. Es ist zweckmäßig, für die Cu-Konzentrationen den logarithmischen Maßstab zu wählen (z. B. BLUMER u. KUNDERT, 1949, 1950), weil die Keimungskurve auf diese Weise eine symmetrische Form erhält. Wir benützen dabei eine abgekürzte Schreibweise, wie sie z. B. bei Angabe der Wasserstoffionenkonzen-

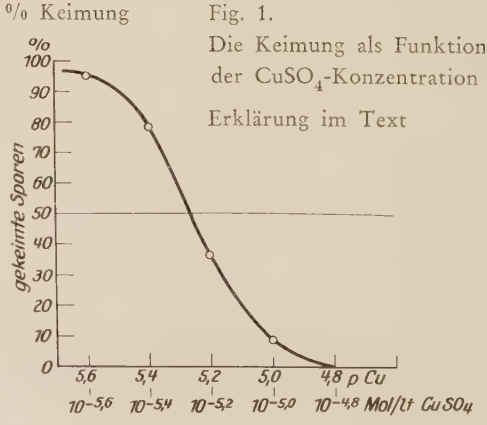


Fig. 1.
Die Keimung als Funktion der $CuSO_4$-Konzentration
Erklärung im Text

tration allgemein üblich ist. Wir drücken also beispielsweise die Konzentration 10^{-5}Mol/lt Cu^{+2} durch das Zeichen pCu 5 aus, so wie man 10^{-5}Mol/lt H^{+} durch pH 5 ausdrückt.

Aus Fig. 1 geht hervor, daß die Keimung bei pCu-Werten $>$ 5,7 (d. h. bei Cu-Konzentrationen $< 2.10^{-6}$Mol/lt = 0,12 mgr/lt) normal vor sich geht, und daß sie bei pCu-Werten $<$ 4,7 (d. h. bei Cu-Konzentrationen $> 2.10^{-5}$Mol/lt = 1,2 mgr/lt) vollständig unterbunden wird. Bei pCu 5,3 (0,3 mgr/lt Cu) erfolgt die Keimung zu 50%; der LD_{50}-Wert unserer Sporen liegt also bei pCu 5,3 (LD_{50}-Wert = Dosis Fungizid, bei der 50% der Sporen abgetötet werden).

Zur exakten Bestimmung des LD_{50}-Wertes wendet man häufig ein Rechenverfahren (Probitanalyse) an, welches auf Bliss (1935) zurückgeht. Man geht dabei von der Annahme aus, daß die Cu-Empfindlichkeit der Sporen statistisch normal um einen Mittelwert verteilt sei. Diese Normalverteilung äußert sich in der Symmetrie der Keimungskurve. Die Steilheit der Kurve hängt davon ab, ob die Cu-Empfindlichkeit für alle Sporen eine einheitliche, oder aber eine stark streuende Größe ist. Je größer die Streuung, desto flacher verläuft die Keimungskurve. Da alle unsere Kurven relativ steile Sprünge zeigen, haben wir uns stets mit dem graphisch ermittelten LD_{50}-Wert begnügt, welcher in diesem Fall mit dem berechneten Wert sehr gut übereinstimmt.

Der LD_{50}-Wert von pCu 5,3 ließ sich während längerer Zeit gut reproduzieren; nur selten kamen Abweichungen vor (z. B. LD_{50} bei pCu 5,2 oder 5,4). Dies sei durch die Zahlen der Tab. 3 belegt:

Tabelle 3

Reproduzierbarkeit der LD_{50}-Werte während 2 Monaten

	21. Sept.	27. Sept.	4. Okt.	13. Okt.	19. Okt.	17. Nov.
Keimung in % bei pCu 5,2	36	8	30	37	20	35
bei pCu 5,4	78	60	86	81	82	83

Neben der guten Übereinstimmung dieser Zahlen beachte man die Tatsache, daß eine verhältnismäßig kleine Differenz von 0,2 pCu-Einheiten genügt, um die Keimung von 80% auf 30% zu reduzieren. Die Cu-Empfindlichkeit der Sporen streut also nur schwach um den Mittelwert pCu 5,3. Infolge dieser schwachen Streuung durften wir bei unseren Versuchen mit Zusätzen schon eine geringe Verschiebung des LD_{50}-Wertes (z. B. um 0,4 pCu-Einheiten) als gesichert betrachten; die Anwendung von umständlichen statistischen Prüfverfahren erwies sich hier als völlig überflüssig.

Um allfälligen Versuchsfehlern vorzubeugen, haben wir ferner die Temperaturabhängigkeit des LD_{50}-Wertes geprüft. Es ergab sich, daß der LD_{50}-Wert zwischen 10° C und 30° C temperaturunabhängig ist.

Weiter prüften wir den Einfluß des pH auf den LD_{50}-Wert mit dem Resultat, daß man zwischen pH 4 und pH 7 diesen Einfluß weitgehend vernachlässigen darf.

Schließlich wurde der Einfluß des Anions ermittelt, indem wir die Sporen einerseits in $CuSO_4$ und andrerseits in $CuCl_2$ keimen ließen. In beiden Fällen resultierte genau dieselbe Kurve. Sulfat und Chlorid haben demnach keinen sichtbaren Einfluß auf den Kurvenverlauf.

2. Cu + Kationen

Im Laufe unserer Arbeiten, vor allem bei jenen mit Blattdialysaten, kamen wir auf den Gedanken, daß Kationen die Wirkung des Kupfers beeinflussen könnten. Deshalb haben wir Versuche ausgeführt, bei denen zum Cu-Salz noch ein weiteres Salz zugegeben wurde.

Kalium

Vorbereitend stellten wir fest, daß die Sporenkeimung in Lösungen von reinem KCl normal verläuft. Selbst bei Konzentrationen von 10^{-1} Mol/lt KCl ist keinerlei Hemmung festzustellen.

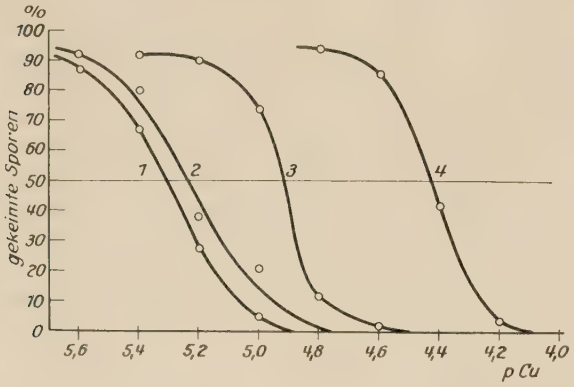


Fig. 2. Die Inaktivierung des Cu^{+2}-Ions durch das K^{+}-Ion
Kurve 1: $CuCl_2$-Reihe
Kurve 2: „ „ mit KCl-Zusatz von 5.10^{-5} Mol/lt
Kurve 3: „ „ „ „ „ „ 5.10^{-4} „
Kurve 4: „ „ „ „ „ „ 5.10^{-3} „

Führt man nun den Sporenkeimtest einerseits mit einer gewöhnlichen $CuCl_2$-Reihe aus, andrerseits mit Mischungen von $CuCl_2$—KCl, so erhält man die Kurven der Fig. 2.

Die Kurve 1 zeigt die Keimung in $CuCl_2$ ohne Zusatz von KCl. Bei Kurve 2 enthielt jede Cu-Lösung 5.10^{-5}, bei Kurve 3 jede Lösung 5.10^{-4} und bei Kurve 4 jede Lösung 5.10^{-3} Mol/lt KCl. Man sieht, daß sich die Kurven in Richtung kleinerer pCu-Werte (d. h. höherer Cu-Konzentrationen) verschieben, wenn die KCl-Konzentration vergrößert wird.

Mit steigender KCl-Konzentration steigt also die für die Keimungshemmung erforderliche Cu-Konzentration. Das K^{+}-Ion vermag somit das Cu^{+2}-Ion zu inaktivieren. Es kann sich dabei aber nicht um irgendeine chemische Bindung des Cu^{+2}-Ions handeln (Reaktionen zwischen Cu^{+2} und K^{+} kommen nicht in Frage). Vielmehr ist man zur Annahme gezwungen, daß die K^{+}-Ionen die Oberfläche der Sporen besetzen und auf diese Weise das Eindringen der Cu^{+2}-Ionen verhindern.

Eine ganz ähnliche Beobachtung fanden wir nachträglich bei P. B. MARSH (1945) und bei LIN (1940). MARSH, welcher bei seinen Keimungsversuchen allerdings noch Glucose zusetzte, hat folgendes gezeigt: Durch Zusatz von Mg-Salzen läßt sich die keimungshemmende Wirkung des Kupfers aufheben. Der Effekt läßt sich durch Sporenzählung, durch Atmungsversuche und durch chemische Analyse des resorbierten Kupfers nachweisen.

Dieses Verhalten der Sporenoberfläche ist dasjenige eines Kationenaustauschers, d. h. einer hochmolekularen Verbindung mit Haftstellen, an welche die Kationen mehr oder weniger beweglich gebunden sind. Der Ersatz eines Kations durch ein anderes beruht auf Unterschieden in der Haftfestigkeit am

Austauscher oder auf Unterschieden in den angewendeten Konzentrationen. Allerdings gibt die quantitative Betrachtung unserer Resultate keine sichern Anhaltspunkte dafür, daß sich der Ionenaustausch an der Sporenoberfläche durch dieselben mathematischen Ausdrücke formulieren läßt, welche für die Gleichgewichte synthetischer Ionenaustauscher benützt werden.

Natrium

Ähnlich wie mit KCl haben wir auch Versuche mit NaCl-Zusätzen durchgeführt. Es zeigte sich dabei, daß das Na-Ion etwas weniger Cu-inaktivierend wirkt. Die angewendeten Konzentrationen betrugen 5.10^{-3} und 5.10^{-4} Mol/lt NaCl.

Magnesium

Versuche mit Mg-Zusätzen von 5.10^{-4} Mol/lt $MgCl_2$ ließen keine Cu-inaktivierende Wirkung des Mg erkennen.

Calcium

Vorbereitend wurde ein Keimungsversuch in reiner $CaCl_2$-Lösung ausgeführt. Es zeigte sich, daß die Keimung in Gegenwart von 10^{-3} Mol/lt $CaCl_2$ normal verläuft.

Bei der Keimung in Mischungen von Cu-Salzen mit $CaCl_2$ erhielten wir die überraschenden Kurven der Fig. 3.

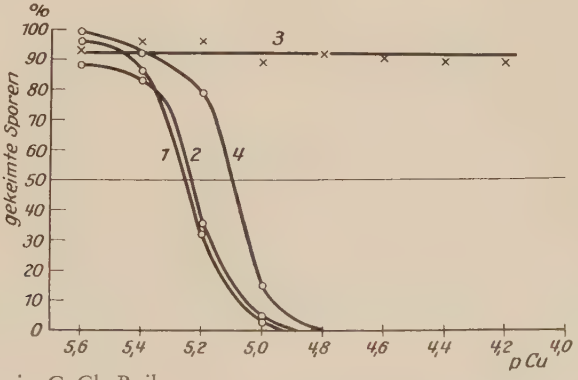


Fig. 3.
Die Inaktivierung des Kupfers durch das Ca^{+2}-Ion

Kurve 1: Keimung in $CuCl_2$-Reihe
Kurve 2: „ „ $CuSO_4$ „
Kurve 3: „ „ $CuSO_4$ „ mit Zusatz von 10^{-3} Mol/lt $CaCl_2$
Kurve 4: „ „ $CuCl_2$ „ mit Zusatz von 10^{-3} Mol/lt $CaCl_2$

Kurve 1 ist die Kontrollkurve, aufgenommen mit einer $CuCl_2$-Reihe. Sie deckt sich vollkommen mit der Kurve 2, bei welcher $CuCl_2$ durch $CuSO_4$ ersetzt wurde.

Kurve 4 zeigt den Einfluß von $CaCl_2$ auf $CuCl_2$. Das Ca^{+2}-Ion verdrängt offenbar, ähnlich wie K^+ und Na^+, das Cu^{+2}-Ion von der Sporenoberfläche. Gehen wir zu Kurve 3 über, wo nicht $CuCl_2$, sondern $CuSO_4$ verwendet wurde, so ergibt sich ein ganz anderes Bild. Offensichtlich wirkt das Ca^{+2}-Ion in Gegenwart von SO_4^{-2} unvergleichlich viel kräftiger als in Gegenwart von Cl^-. Dabei haben schon sehr kleine Mengen SO_4^{-2} eine recht

große Wirkung. — Diesen tiefgreifenden Einfluß des Anions haben wir dagegen beim K^+ nicht vorgefunden, sondern es zeigte sich dort, daß KCl in $CuCl_2$ und in $CuSO_4$ gleich gut inaktivierend wirkt.

Der merkwürdige Einfluß des Sulfations auf die Wirkung des Ca-Ions ist nicht leicht zu erklären. Man möchte annehmen, daß auf der Sporenoberfläche $CaSO_4$ fein ausgefällt wird, so daß die Eintrittstellen für Cu^{+2} gleichsam verstopft werden. Ähnliche Beobachtungen wurden an synthetischen Ionenaustauschern gemacht. — Dagegen ist zu sagen, daß das Löslichkeitsprodukt von $CaSO_4$ in keiner unserer Lösungen überschritten war, weshalb die Bildung von $CaSO_4$ unwahrscheinlich ist. Vielleicht handelt es sich hier aber um die Bildung einer komplexen Oberflächenverbindung etwa in der Weise, daß sich Ca^{+2} z. B. an 2 Carboxylatgruppen der Zellwand anlagert (HÖBER, 1947, p. 319 ff.) und hierauf noch SO_4^{-2} addiert, wodurch eine sehr feste Bindung entstehen würde. Wir haben allerdings keine weiteren Stützen für eine solche Hypothese.

Wasserstoffion

Vorbereitend wurde wiederum die Keimung bei verschiedenen H^+-Konzentrationen untersucht. Dabei zeigte sich die folgende fungizide Wirkung des H^+-Ions: Unterhalb pH 1,8 findet keine Keimung statt; bei pH 2,5 keimen 50% der Sporen, und oberhalb pH 3,5 erfolgt keine Hemmung mehr (Kurve 1 der Fig. 4). Für die Bereitung der Lösungen bis pH 4 wurde HCl verwendet; erst bei höhern pH-Werten nahmen wir Puffer zu Hilfe.

Läßt man die Sporen in Mischungen von $CuCl_2$ und H-Ionen keimen, so besteht folgende prinzipielle Schwierigkeit: Für die Einstellung von pH-Werten zwischen 4 und 6 müssen Pufferlösungen verwendet werden, da sonst nicht von einem definierten pH-Wert der Lösung gesprochen werden könnte. Jede Pufferlösung enthält aber Kationen, deren Anwesenheit bei unserm Versuch unerwünscht ist, weil dadurch weitere Antagonismen möglich werden. Die Verwendung von solchen Pufferlösungen schafft also ziemlich unübersichtliche Verhältnisse.

Keimversuche mit Mischungen aus pH-Puffern und $CuCl_2$ im Gebiet pH 4 bis 6 ließen tatsächlich einen inaktivierenden Einfluß des H-Ions erkennen, doch können (aus den angeführten Gründen) keine zuverlässigen Schlüsse gezogen werden. — Viel klarere Resultate erhielten wir in Mischungen von $CuCl_2$ und HCl im pH-Gebiet 1 bis 4. Diese Versuche sind dargestellt durch die Tab. 4 und durch die Kurven der Fig. 4. Man beachte, daß als Abszissenachse diesmal nicht die pCu-Werte, sondern das pH aufgetragen ist.

Tabelle 4

Keimung in Mischungen von HCl und $CuCl_2$

pH	Wasser	pCu 4,5	pCu 4,0	pCu 3,5
1,14	0	0	0	0
1,58	0	0	0	0
1,80	0	0	0	0
2,03	16	11	10	8
2,25	34	34	35	29
2,50	51	52	53	40
2,77	79	75	43	31
3,00	87	76	25	9
3,49	93	6	2	0
3,99	97	0	0	0

Die Zahlen bedeuten % gekeimte Sporen

Während Kurve 1 die Keimung in einer reinen HCl-Reihe zeigt, sind bei den Kurven 2—4 zur Salzsäure steigende Mengen $CuCl_2$ zugesetzt worden. Die Cu-Konzentrationen in diesen Reihen betragen $10^{-4,5}$, $10^{-4,0}$ und $10^{-3,5}$ Mol/lt Cu. Es handelt sich demnach um Cu-Mengen, welche die Letaldosis von $0{,}5.10^{-5}$ Mol/lt um nahezu das 10- bis 100fache übersteigen. Trotzdem keimen die Sporen, was sich auch hier nur dadurch erklären läßt, daß die H^+-Ionen die Aufnahme der Cu^{+2}-Ionen verhindern.

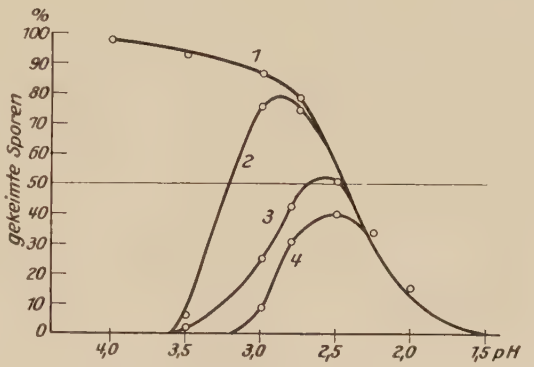


Fig. 4. Keimung in Mischungen von HCl und $CuCl_2$
Kurve 1: Reine HCl
„ 2: Zusatz von $10^{-4,5}$ Mol/lt $CuCl_2$
„ 3: „ „ $10^{-4,0}$ „ „
„ 4: „ „ $10^{-3,5}$ „ „

Auffallend ist nun aber die Tatsache, daß diesmal das entgiftende Kation (H^+-Ion) s e l b s t fungizid wirkt. Am schönsten kommt dies in der Kurve 2 zum Ausdruck, in welcher der nach rechts absteigende Ast durch die hemmende Wirkung des H-Ions erzeugt wird, während der nach links absteigende Ast auf der Cu-Wirkung beruht. Im Scheitelpunkt der Kurve verhindern die H-Ionen zwar die Cu-Resorption, wirken aber selbst noch wenig fungizid. — Geht man zu höheren Cu-Konzentrationen über (Kurven 3 und 4), so erfordert die Inaktivierung des Kupfers viel höhere H^+-Konzentrationen, welche nun selbst toxisch wirken. Die Gipfel der Kurven 3 und 4 liegen deshalb tiefer als bei Kurve 2.

Orientierende Versuche mit z w e i A n t a g o n i s t e n wurden mit $CuCl_2$-KCl-$CaCl_2$-Gemischen ausgeführt. Die Verhältnisse waren jedoch wenig übersichtlich. Man müßte eine größere Zahl von Keimreihen aufnehmen, um diejenigen Konzentrationsgebiete zu finden, welche einwandfrei deutbare Resultate liefern könnten.

Es liegt nahe, die Wirksamkeit der Cu-inaktivierenden Kationen miteinander vergleichen zu wollen. Da jedoch diese Frage nicht im Mittelpunkt unseres Interesses stand, besitzen wir hierüber noch zu wenig Tatsachenmaterial, und die nachstehenden Angaben bedürfen deshalb noch einer sorgfältigen Überprüfung. Wir erhielten bei der Ordnung der Kationen nach steigender Wirksamkeit ungefähr folgende Reihe: Mg < Na < Ca (ohne Sulfat) < K < H. Diese Folge stimmt ziemlich gut überein mit Reihen, welche an gewissen Ionenaustauschern und an ionenaustauschenden Tonen gefunden wurden (vgl. z. B. Frey-Wyssling 1935, p. 206). — Von Interesse wäre die Einbeziehung des Mangans in derartige Versuche; Mn-Salze haben sich nämlich wiederholt als ausgezeichnete Cu-Inaktivatoren erwiesen (Fattinger, 1950; Mulder, 1938).

Die hier beschriebenen Versuche dürfen wohl als Beispiele für den in der ganzen Biologie vorkommenden Ionenantagonismus angesehen werden. Die Ionenkonkurrenz spielt bekanntlich bei sämtlichen Resorptionsvorgängen (z. B. Salzaufnahme der Pflanzenwurzeln, der Darmwand usw.) eine bedeutende Rolle. Es gibt denn auch bereits schon eine Anzahl von Arbeiten, die sich speziell mit Pilzen befassen (LIN, 1940; P. B. MARSH, 1945; FATTINGER, 1950; BODNAR u. TERENYI, 1930; GENAUD, 1930).

Die Ausdehnung solcher Studien auf weitere Ionen würde ein weites und dankbares Arbeitsfeld eröffnen. Zu erwarten wären vertiefte Kenntnisse über den Aufbau der Zellmembran und über den Resorptionsmechanismus der Zelle. Besonders die Abklärung von quantitativen Beziehungen wäre interessant. Die Keimtestmethode hat dabei verschiedene Vorteile: sie arbeitet schnell, gibt sowohl qualitative als auch quantitative Ergebnisse, und die verwendeten Lösungen enthalten lediglich die interessierenden Bestandteile. Wie weit sich die an einem bestimmten Versuchsobjekt gesammelten Erfahrungen auf andere Mikroorganismen, Pflanzenwurzeln usw. übertragen lassen, kann natürlich nicht vorausgesagt werden, da sich die Zellwandstoffe der verschiedenen Organismen weitgehend unterscheiden.

3. Cu + Komplexbildner

Durchgeht man die Literatur über Cu-Fungizide, so stößt man gelegentlich auf Beobachtungen, welche eine komplexe Bindung des Kupfers vermuten lassen. Da bisher noch keine sauberen Versuche über das fungizide Verhalten von komplexgebundenem Kupfer vorliegen, stellten wir uns die Aufgabe, dessen Wirkung auf die Sporenkeimung abzuklären.

Hierzu sind die sog. Metallpuffer geeignet (z. B. SCHWARZENBACH, 1949). Gibt man zur Lösung eines Cu^{+2}-Salzes einen Überschuß eines Komplexbildners wie z. B. NH_3, so wird das Cu^{+2} komplex gebunden:

$$Cu^{+2} + 4\ NH_3 \rightleftarrows [Cu(NH_3)_4]^{+2}$$

Ausführlich müßte diese Gleichung lauten:

$$Cu^{+2} + SO_4^{-2} + 4\ NH_3 \rightleftarrows [Cu(NH_3)_4]^{+2} + SO_4^{-2}$$

Auf der linken Seite der Gleichung steht das Salz $CuSO_4$ und der Komplexbildner NH_3. Auf der rechten Seite steht das Komplexion $[Cu(NH_3)_4]^{+2}$ als positiver Bestandteil des Komplexsalzes $[Cu\ (NH_3)_4]\ SO_4$.

Daß sich eine solche Reaktion tatsächlich abspielt, läßt sich wie folgt nachweisen:

1. Bei der Zugabe von NH_3 wechselt die Farbe der Lösung nach tiefblau, eine Folge der tiefblauen Farbe des entstandenen Komplexions.
2. Durch Zugabe von NaOH läßt sich aus der tiefblauen Lösung kein $Cu(OH)_2$ mehr ausfällen. Offenbar enthält also diese Lösung praktisch gar keine freien Cu^{+2}-Ionen mehr. NH_3 vermag demnach mit dem Cu^{+2}-Ion eine so stabile Komplexverbindung zu bilden, daß die Lösung wichtige Eigenschaften einer reinen Cu^{+2}-Lösung verliert.

Es ist zu beachten, daß die Bildung des löslichen Komplexions $[Cu(NH_3)_4]^{+2}$ auf einem chemischen Gleichgewicht beruht, was durch den Doppelpfeil angedeutet wurde. Dieses Gleichgewicht liegt weitgehend auf der rechten Seite der obenstehenden Gleichung; immerhin sinkt die Cu^{+2}-Konzentration beim Komplexbildungsvorgang nicht auf 0 ab, sondern behält einen endlichen, allerdings kleinen Wert. Dieser Wert hängt ab von der

Haftfestigkeit des gewählten Komplexbildners am Cu^{+2}; ferner läßt er sich variieren durch Änderung der angewendeten Konzentrationen und des pH. Ein solches System (d. h. eine Mischung von Cu^{+2} mit überschüssigem Komplexbildner) heißt, in Analogie zu den bekannten pH-Puffern, Metallpuffer. Es hat die Eigenschaft, daß seine Konzentration an freiem Cu^{+2} weitgehend definiert ist und sich nicht ändert, wenn kleine Mengen Cu^{+2}-Salze oder Komplexbildner zugesetzt werden.

Natürlich verlangt ein solches System eine sorgfältige Unterscheidung zwischen freiem und total vorhandenem Kupfer, genau wie man bei pH-Puffern zwischen aktueller und potentieller Azidität zu unterscheiden hat. In Cu-Puffern gilt also:

$$Cu_{Total} = \text{freies } Cu^{+2} + \text{komplexgebundenes } Cu^{+2}.$$

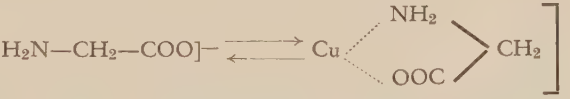
So wie man nun den Ausdruck pH für die Konzentration an freien H^+-Ionen reserviert hat, so werden wir den Ausdruck pCu fortan nur noch für die Konzentration an freiem Cu^{+2}-Ion verwenden.

Unser Keimungsproblem lautet nunmehr wie folgt: In welchem Maße sind totales, komplexgebundenes und freies Cu^{+2}-Ion für die Hemmung verantwortlich. Um diese Frage zu beantworten, stellten wir Cu-Puffer her, deren Gehalt an totalem, komplexgebundenem und freiem Cu^{+2} durch Berechnung bekannt war. Als Komplexbildner diente Glykokoll, da uns dieses auf Grund seiner Komplexbildungskonstanten geeignet erschien.

Diese Aminosäure bildet bei ihrer Dissoziation das Glykokoll-Anion:

(1 a) $H_2N{-}CH_2{-}COOH \rightleftarrows H_2N{-}CH_2{-}COO^- + H^+$
Glykokoll-Anion

welches vom Cu^{+2}-Ion unter Komplexbildung angelagert werden kann:

(2 a) $Cu^{+2} + H_2N{-}CH_2{-}COO]^- \rightleftarrows$ 

Als Abkürzung schreiben wir für die Aminosäure Glykokoll fortan den Ausdruck HGl, worin H das saure H^+-Ion bedeutet. Die Gleichungen (1 a) und (2 a) lauten nun:

(1) $HGl \rightleftarrows Gl^- + H^+$

(2) $Cu^{+2} + Gl^- \rightleftarrows CuGl]^{+1}$

Gibt man größere Mengen Glykokoll zur Kupferlösung, so wird ein zweites Anion angelagert:

(3) $CuGl]^{+1} + Gl^- \rightleftarrows CuGl_2]^0$

wobei der ungeladene, lösliche Komplex $CuGl_2$ entsteht. Auf die Anlagerung eines 3. Anions nach der Gleichung

$$CuGl_2]^0 + Gl^- \rightleftarrows CuGl_3]^-$$

gehen wir nicht ein, da sie sich nur in kleinem Umfange abspielt und im folgenden vernachlässigt werden darf. Ebenso berücksichtigen wir die nur schwache Bildung des Komplexes $CuHGl^{+2}$ nicht.

Auf jede der Gleichungen (1)—(3) läßt sich das Massenwirkungsgesetz anwenden, welches in einer beliebigen Mischung von Cu^{+2} und Glykokoll gültig ist:

$$(4)\quad \frac{H \cdot Gl}{HGl} = K_1 \qquad (5)\quad \frac{CuGl}{Cu \cdot Gl} = K_2 \qquad (6)\quad \frac{CuGl_2}{CuGl \cdot Gl} = K_3$$

In jeder Mischung von Glykokoll und Cu^{+2} gelten ferner folgende Beziehungen:

$$(7)\quad Cu^{+2}_{frei} + CuGl]^{+} + CuGl_2 = Cu_{Total}$$
$$(8)\quad HGl + Gl^{-} + CuGl]^{+} + 2\,CuGl_2 = Gl_{Total}$$

wobei Gl_{Total} die Gesamtkonzentration an Glykokoll bedeutet.

Die Konstanten K_1, K_2 und K_3 wurden von FLOOD und LORAS (1944) gemessen; sie betragen $K_1 = 10^{-9,73}$, $K_2 = 10^{+8,5}$, $K_3 = 10^{+6,9}$. Unter der Festsetzung $H = 10^{-5,5}$ (d. h. pH 5,5 = dest. Wasser) haben wir nun folgende drei Versuchsreihen angesetzt:

1. Keimung der Pilzsporen in einer $CuSO_4$-Reihe (Testkurve, Kurve 1 der Fig. 5).
2. Keimung der Pilzsporen in Cu-Puffern mit konstanter totaler Cu-Konzentration von 10^{-3} Mol/lt (Kurve 2 der Fig. 5).

   Für die Berechnung der Puffergemische erteilten wir der Variablen Cu_{Total} den konstanten Wert $1{,}0.10^{-3}$ und der Variablen H^{+} den konstanten Wert von $10^{-5,5}$. Aus den Gleichungen (4)—(8) leiten sich die Gleichungen (9) und (10) ab:

$$(9)\quad Gl^2 \frac{Cu}{K_2 \cdot K_3} + Gl \frac{Cu}{K_2} + Cu - Cu_{Total} = 0$$

$$(10)\quad Gl_{Total} = \frac{H \cdot Gl}{K_1} + \frac{Cu \cdot Gl}{K_2} + 2 \cdot \frac{Cu \cdot Gl^2}{K_2 \cdot K_3}$$

   Aus Gleichung (9) werden zunächst für pCu 4,0, 4,2, 4,4, 4,6 usw. die zugehörigen Gl-Werte berechnet. Durch Einsetzen dieser Werte in (10) lassen sich nun diejenigen Mengen Glykokoll (Gl_{Total}) bestimmen, die zur Einstellung der gewünschten pCu-Werte erforderlich sind.

3. Keimung der Sporen in Cu-Puffern mit konstanter totaler Glykokollkonzentration von $1{,}5.10^{-3}$ Mol/lt (Kurve 3 der Fig. 5).

   Für die Berechnung der Puffergemische erteilten wir der Größe Gl_{Total} den konstanten Wert $1{,}5.10^{-3}$ und der Größe H den Wert $10^{-5,5}$. Aus den Gleichungen (4) bis (8) leiten sich die Gleichungen (11) und (12) ab:

$$(11)\quad Gl^2 \frac{2\,Cu}{K_2 \cdot K_3} + Gl \left[\frac{Cu}{K_2} + \frac{H}{K_1}\right] - Gl_{Total} = 0$$

$$(12)\quad Cu_{Total} = Gl^2 \frac{Cu}{K_2 \cdot K_3} + Gl \frac{Cu}{K_2} + Cu$$

   Aus Gleichung (11) werden zunächst für pCu 4,0, 4,2, 4,4, 4,6 usw. die zugehörigen Werte für Gl berechnet. Durch Einsetzen dieser Werte in (12) lassen sich nun diejenigen Mengen Cu_{Total} ermitteln, welche zur Einstellung der gewünschten pCu-Werte erforderlich sind.

Die Einstellung des pH-Wertes 5,5 dieser Cu-Puffer erfolgte durch Zugabe von n/100 NaOH zum Gemisch von $CuSO_4$ und Glykokoll; als Meßgerät diente die Glaselektrode. Das pH der Lösungen war nicht gepuffert.

Durch Zusatz von geeigneten Mengen NaCl wurden sämtliche Lösungen auf eine Konzentration von 10^{-2} Mol/lt. Na eingestellt; dadurch wird die antagonistische Wirkung des Na-Ions überall gleich groß und darf deshalb außer Acht gelassen werden.

Die drei Versuchsreihen finden sich dargestellt in der Tabelle 5. Aus der Tabelle geht als bedeutsamstes Ergebnis hervor, daß nur das freie Cu^{+2}-Ion die Keimung hemmt, wogegen komplexgebundenes Kupfer unwirksam bleibt. Dieses Resultat wird durch die Fig. 5 veranschaulicht, in welcher die Keimung als Funktion der pCu-Werte, d. h. in Abhängigkeit der Konzentration an freiem Cu^{+2}-Ion aufgetragen wurde. Man erkennt, daß die Keimung tatsächlich vom pCu-Wert der Lösung abhängt, nicht aber vom total zugesetzten Cu^{+2}, welches z. B. im ganzen Bereich der Kurve 2 die Letaldosis um mehr als das Zehnfache übersteigt.

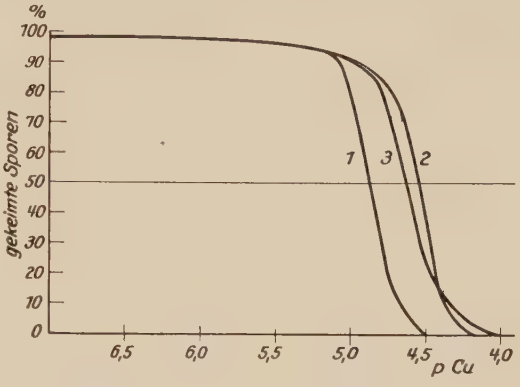


Fig. 5. Wirkung des freien Cu^{+2}-Ions auf die Sporenkeimung

Kurve 1: Lösungen von reinem $CuSO_4$,
Kurve 2: Mischungen von $CuSO_4$-Glykokoll, totales $CuSO_4$ stets 10^{-3} Mol/lt,
Kurve 3: Mischungen von $CuSO_4$-Glykokoll, totales Glykokoll stets $1{,}5.10^{-3}$ Mol/lt.
Die Na-Konzentration beträgt überall 10^{-2} Mol/lt.

Die Kurven 2 und 3 stimmen unter sich ausgezeichnet überein, differieren jedoch mit der Testkurve um etwa 0,3 pCu-Einheiten. Diese Differenz, auf welche wir noch kurz zurückkommen werden, ist keinesfalls sehr schwerwiegend, vielmehr scheint uns die Übereinstimmung eine sehr gute zu sein. Demnach liegt hier ein quantitativer Beweis vor für die Vermutung, daß sich der Begriff des Metallpuffers und des pCu-Wertes auf dieses biologische Problem tatsächlich anwenden läßt.

Die gesicherte kleine Abweichung der Kurven 2 und 3 von der Testkurve 1 läßt sich nicht ohne weiteres erklären. Keinesfalls ist sie auf eine schwache fungizide Wirkung des komplexgebundenen Kupfers zurückzuführen, denn in einem solchen Fall müßten die Kurven 2 und 3 in Richtung höherer pCu-Werte verschoben werden. Ebenfalls abwegig dürfte es sein, die Verschiebung der Kurven durch eine stimulierende Wirkung des überschüssigen Glykokolls erklären zu wollen. Einige Versuche (Keimschlauchmessungen) ließen nämlich keinerlei Stimulation der Sporenkeimung durch Glykokoll erkennen.

Dagegen mag die beobachtete Differenz wenigstens teilweise von Unstimmigkeiten der verwendeten Komplexbildungs- und Aciditätskonstanten herrühren. Diese Konstanten wurden von Flood und Loras (1944) an verdünnten Lösungen gemessen, ihre Benützung für unsere Lösungen, welche 10^{-2} molar an NaCl waren, kann deshalb zu kleinen Fehlern führen. — Eine weitere Möglichkeit, die Abweichung von 0,3 pCu-Einheiten zu erklären, ist die Annahme eines zusätzlichen Ionenantagonismus. Man hat nämlich zu berücksichtigen, daß die Aminosäure Glykokoll in wäßriger Lösung als Zwitterion $-OOC\text{-}CH_2\text{-}NH_3^+$ vorliegt. Es läßt sich nun denken, daß sich das überschüssige Glykokoll mit seinem posi-

tiven Ende an die Sporenmembran anlagert, sich also wie ein gewöhnliches 1-wertiges Kation verhält. Dadurch würde die Beladung der Membran mit Cu^{+2} herabgesetzt. Übrigens müßte eine solche antagonistische Wirkung auch für das komplexe Kation $(CuGl)^{+}$ in Erwägung gezogen werden. Leider ist ein eindeutiger Beweis für die Existenz eines zusätzlichen Ionenantagonismus nicht leicht zu erbringen.

Tabelle 5

Keimung der *Alternaria*sporen in $CuSO_4$ sowie in Cu-Puffern, bestehend aus $CuSO_4$ und Glykokoll

Einstellung des pH mit NaOH auf 5,5. Na-Konzentration stets 1,0. 10^{-2} Mol/lt, eingestellt durch geeignete Zusätze von NaCl

	Glykokoll Total	Cu Total	Cu Komplex	Cu frei		Keimung in %
	Mol/lt	Mol/lt	Mol/lt	Mol/lt	pCu	
Versuchsreihe 1. (ohne Glykokoll)		$1{,}0.10^{-3}$		$1{,}0.10^{-3}$	= 3,0	0
		$1{,}0.10^{-4}$		$1{,}0.10^{-4}$	= 4,0	0
		$6{,}3.10^{-5}$		$6{,}3.10^{-5}$	= 4,2	0
		$4{,}0.10^{-5}$		$4{,}0.10^{-5}$	= 4,4	0
		$2{,}5.10^{-5}$		$2{,}5.10^{-5}$	= 4,6	0
		$1{,}6.10^{-5}$		$1{,}6.10^{-5}$	= 4,8	29
		$1{,}0.10^{-5}$		$1\,0.10^{-5}$	= 5,0	76
		$6{,}3.10^{-6}$		$6{,}3.10^{-6}$	= 5,2	95
		$4{,}0.10^{-6}$		$4{,}0.10^{-6}$	= 5,4	96
		$2{,}5.10^{-6}$		$2{,}5.10^{-6}$	= 5,6	95
		$1{,}0.10^{-6}$		$1{,}0.10^{-6}$	= 6,0	97
Versuchsreihe 2. (Cu_{Total} = konstant)	$0{,}79.10^{-3}$	$1{,}0.10^{-3}$	$6{,}8\ .10^{-4}$	$3{,}2.10^{-4}$	= 3,5	0
	$1{,}40.10^{-3}$	$1{,}0.10^{-3}$	$9{,}0\ .10^{-4}$	$1{,}0.10^{-4}$	= 4,0	0
	$1{,}75.10^{-3}$	$1{,}0.10^{-3}$	$9{,}4\ .10^{-4}$	$6{,}3.10^{-5}$	= 4,2	0
	$2{,}16.10^{-3}$	$1{,}0.10^{-3}$	$9{,}6\ .10^{-4}$	$4{,}0.10^{-5}$	= 4,4	12
	$2{,}6\ .10^{-3}$	$1{,}0.10^{-3}$	$9{,}75.10^{-4}$	$2{,}5.10^{-5}$	= 4,6	60
	$3{,}2\ .10^{-3}$	$1{,}0.10^{-3}$	$9{,}84.10^{-4}$	$1{,}6.10^{-5}$	= 4,8	81
	$4{,}0\ .10^{-3}$	$1{,}0.10^{-3}$	$9{,}9\ .10^{-4}$	$1{,}0.10^{-5}$	= 5,0	92
	$4{,}9\ .10^{-3}$	$1{,}0.10^{-3}$	10^{-3}	$6{,}3.10^{-6}$	= 5,2	94
	$6{,}0\ .10^{-3}$	$1{,}0.10^{-3}$	10^{-3}	$4{,}0.10^{-6}$	= 5,4	93
	$7{,}5\ .10^{-3}$	$1{,}0.10^{-3}$	10^{-3}	$2{,}5.10^{-6}$	= 5,6	98
	$1{,}15.10^{-2}$	$1{,}0.10^{-3}$	10^{-3}	$1{,}0.10^{-6}$	= 6,0	97
Versuchsreihe 3. ($Glykokoll_{Total}$ = konstant)	$1{,}5.10^{-3}$	$2{,}3\ .10^{-3}$	$1{,}3\ .10^{-3}$	$1{,}0.10^{-3}$	= 3,0	0
	$1{,}5.10^{-3}$	$1{,}52.10^{-3}$	$1{,}2\ .10^{-3}$	$3{,}2.10^{-4}$	= 3,5	0
	$1{,}5.10^{-3}$	$1{,}03.10^{-3}$	$0{,}93.10^{-3}$	$1{,}0.10^{-4}$	= 4,0	0
	$1{,}5.10^{-3}$	$8{,}64.10^{-4}$	$8{,}0\ .10^{-4}$	$6{,}3.10^{-5}$	= 4,2	10
	$1{,}5.10^{-3}$	$7{,}0\ .10^{-4}$	$6{,}6\ .10^{-4}$	$4{,}0.10^{-5}$	= 4,4	15
	$1{,}5.10^{-3}$	$5{,}6\ .10^{-4}$	$5{,}35.10^{-4}$	$2{,}5.10^{-5}$	= 4,6	42
	$1{,}5.10^{-3}$	$4{,}2\ .10^{-4}$	$4{,}0\ .10^{-4}$	$1{,}6.10^{-5}$	= 4,8	83
	$1{,}5.10^{-3}$	$3{,}2\ .10^{-4}$	$3{,}1\ .10^{-4}$	$1{,}0.10^{-5}$	= 5,0	91
	$1{,}5.10^{-3}$	$2{,}26.10^{-4}$	$2{,}2\ .10^{-4}$	$6{,}3.10^{-6}$	= 5,2	94
	$1{,}5.10^{-3}$	$1{,}58.10^{-4}$	$1{,}54.10^{-4}$	$4{,}0.10^{-6}$	= 5,4	96
	$1{,}5.10^{-3}$	$10{,}6\ .10^{-5}$	$10{,}35.10^{-5}$	$2{,}5.10^{-6}$	= 5,6	97
	$1{,}5.10^{-3}$	$4{,}5\ .10^{-5}$	$4{,}4\ .10^{-5}$	$1{,}0.10^{-6}$	= 6,0	98

Weitere Komplexbildner

Nach der quantitativen Abklärung dieser Frage führten wir noch einige ähnliche, bloß qualitative Versuche mit andern natürlich vorkommenden Komplexbildnern aus, nämlich mit Weinsäure, Äpfelsäure und Asparagin.

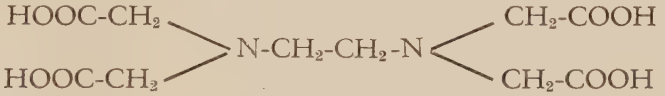
Die Resultate dieser Versuche (Tab. 6) zeigen, daß sich auch hier die hemmende Wirkung des Cu^{+2}-Ions durch Komplexbildung aufheben läßt. Mit Citronensäure wurden keine Versuche durchgeführt; sie würde sich analog der Weinsäure usw. verhalten.

Tabelle 6

Sporenkeimung in % bei Mischungen von $CuSO_4$ und Säuren. Totales $CuSO_4$ = stets 10^{-3} Mol/lt. pH = 5,6. Einstellung des pH durch Zugabe von NaOH zur Mischung von $CuSO_4$ + Säure

Konz. der Säure	Weinsäure	Äpfelsäure	Asparagin
10^{-2} Mol/lt	62,5	90,5	92,5
10^{-3} Mol/lt	0	1,5	0,5
10^{-4} Mol/lt	0	0	0

Schließlich führten wir mit gleichem Erfolg einen analogen Versuch mit Aethylendiamin-tetraessigsäure aus. Diese Substanz mit der Formel



ist ein außerordentlich guter Komplexbildner für viele Metallionen (Schwarzenbach, 1947, 1948). Sie hat deshalb den Handelsnamen „Komplexon III" erhalten. Mit Cu^{+2} reagiert sie nach der Gleichung

$$Cu^{+2} + \text{Komplexon}]^{-4} \rightleftarrows [\text{Cu-Komplexon}]^{-2}$$

Diese Komplexbildung ist so intensiv, daß schon ein kleiner Überschuß an Komplexon genügt, um die Konzentration an freiem Cu^{+2} auf Werte von 10^{-11} Mol/lt herabzusetzen, d. h. pCu-Werte von 11 zu erreichen. Dies geht aus der Tab. 7 hervor.

Tabelle 7

Keimung in Mischungen von $CuSO_4$ und Komplexon III

Cu_{Total}	Komplexon	Keimung in %
10^{-3} Mol/lt	0 Mol/lt	0
10^{-3}	$0{,}8.10^{-3}$	0
10^{-3}	$0{,}9.10^{-3}$	0
10^{-3}	$1{,}1.10^{-3}$	95
10^{-3}	$1{,}2.10^{-3}$	94
10^{-3}	2.10^{-3}	96

Komplexon ist deshalb ein bequemes und zuverlässiges Mittel, die Cu-Wirkung unter Zusatz von relativ wenig Fremdsubstanz auszuschalten.

Nachdem wir die Komplexbildung eingehend besprochen haben, müssen wir nochmals kurz auf die $CuSO_4$-Reihe (Fig. 1) zurückkommen. Es ist bekannt, daß Lösungen von Cu^{+2}-Salzen neben dem freien Cu^{+2}-Ion folgende Komplexe enthalten:

$$Cu(OH)]^{+}, \quad Cu_2OH]^{+3}, \quad Cu_2O]^{+2}, \quad CuSO_4, \quad Cu(SO_4)_2]^{-2}.$$

Auf Grund der Komplexbildungskonstanten, welche von PEDERSEN (1943) und von NÄSÄNEN (1949) bestimmt wurden, läßt sich jedoch berechnen, daß alle diese Komplexe in unsern Keimlösungen nur in sehr kleiner Konzentration auftreten, so daß sich dadurch die Konzentration an freiem Cu^{+2} nur unmerklich ändert. Wir dürfen also hier tatsächlich das freie Cu^{+2} dem gesamten Cu gleichsetzen.

Außer der Komplexbildung muß bei Fig. 1 ferner die Bildung von unsichtbaren Niederschlägen in Erwägung gezogen werden. Aus Lösungen von $CuSO_4$ oder $CuCl_2$ können nämlich folgende schwerlösliche Salze ausfallen: $Cu(OH)_2$, $3Cu(OH)_2 \cdot CuSO_4$, $3Cu(OH)_2 \cdot CuCl_2$, $2Cu(OH)_2 \cdot CuCl_2$ usw.

Mit steigendem pH wird die Bildung dieser Niederschläge begünstigt. Arbeitet man mit sehr verdünnten Cu-Lösungen (z. B. 10^{-5} Mol/lt), so können natürlich nur sehr kleine Mengen dieser basischen Salze gebildet werden. Das Auge würde diese kleinen Mengen gar nicht wahrnehmen, während doch in Wirklichkeit die Konzentration an freiem Cu^{+2} stark abgenommen hätte. — Auf Grund der Löslichkeitsprodukte dieser basischen Cu-Salze (z. B. R. NÄSÄNEN, 1942) läßt sich nun aber berechnen, daß bei keiner unserer Lösungen solche Niederschläge auftreten können.

4. Cu + Traubensaft

Der Einfluß des Traubensaftes auf die Wirkung von Cu-Salzen hat praktisches Interesse: Aus kleinen Verletzungsstellen einer Traubenbeere kann Saft austreten und sich auf der Beerenhaut verteilen. Vermag nun der Traubensaft das Cu der Spritzbeläge zu inaktivieren?

Da der Traubensaft Komplexbildner enthält (Weinsäure, Äpfelsäure) und da in ihm ferner antagonistisch wirkende Kationen vorkommen (K, Ca, H), darf man eine inaktivierende Wirkung zum vorneherein in Betracht ziehen. Folgende Konzentrationen an derartigen Stoffen gelten durchschnittlich für Traubensäfte:

Weinsäure		3.10^{-2} Mol/lt	
Äpfelsäure		3.10^{-2} „	
K^+		10^{-2} „	
Ca^{+2}	gegen	10^{-2} „	
H^+		10^{-3} „	(pH = 2,7 bis 3,5).

Diese Konzentrationen sollten genügen, um die Kupferwirkung auszuschalten (vgl. p. 312—14, 321). Zum Nachweis der Inaktivierung haben wir zunächst folgende 3 Versuchsreihen durchgeführt:

1. Keimung in einer Verdünnungsreihe des reinen Traubensaftes (Kurven 1 und 1 a der Fig. 6),
2. Keimung in derselben Verdünnungsreihe unter Zusatz von 5.10^{-5} Mol/lt Cu (Kurven 2 und 2 a der Fig. 6),
3. Keimung in der ursprünglichen Verdünnungsreihe unter Zusatz von 5.10^{-4} Mol/lt Cu (Kurven 3 und 3 a der Fig. 6).

Das pH des unverdünnten Saftes betrug 3,25. Die Resultate werden wiedergegeben durch die Tab. 8, welche graphisch dargestellt wird durch die Kurven 1, 2 und 3 der Fig. 6.

Tabelle 8

Keimung in Traubensaft-Wasser und Traubensaft-Cu-Gemischen, Ausgangs-pH = 3,25

Konzentration an Traubensaft (unverdünnt = 1)	— log Konz.	Keimung in %		
		ohne $CuSO_4$	5.10^{-5} Mol/lt $CuSO_4$	5.10^{-4} Mol/lt $CuSO_4$
$^1/_2$	0,3	10	0	0
$^1/_4$	0,6	38	2	5
$^1/_6$	0,8	68	18	37
$^1/_{10}$	1,0	79	39	72
$^1/_{18}$	1,25	93	88	43
$^1/_{34}$	1,5	97	93	10
0	∞	95	3	0

Derselbe Traubensaft wurde nun durch Zugabe von NaOH auf pH 4,1 gebracht, worauf wir die Versuchsreihen 1—3 wiederholten. Dabei resultierten die Werte der Tab. 9, welche durch die Kurven 1 a, 2 a und 3 a veranschaulicht werden.

Tabelle 9

Keimung in Traubensaft-Wasser und Traubensaft-Cu-Gemischen, Ausgangs-pH = 4,10

Konzentration an Traubensaft (unverdünnt = 1)	— log Konz.	Keimung in %		
		ohne $CuSO_4$	5.10^{-5} Mol/lt $CuSO_4$	5.10^{-4} Molt/lt $CuSO_4$
$^1/_2$	0,3	90	90	90
$^1/_4$	0,6	91	95	94
$^1/_6$	0,8	94	96	93
$^1/_{10}$	1,0	94	95	89
$^1/_{18}$	1,25	94	95	55
$^1/_{34}$	1,5	97	96	8
0	∞	95	8	0

Bei der Betrachtung der Kurven überrascht zunächst die Tatsache, daß der Traubensaft, sofern er nicht zu stark verdünnt ist, s e l b s t die Keimung zu hemmen vermag (linker Ast der Kurven 1, 2 und 3). Diese Hemmung läßt sich jedoch nur zu einem geringen Teil mit der relativ hohen H^+-Ionenkonzentration erklären (vgl. Fig. 4). Vielmehr muß noch eine unbekannte Hemmsubstanz vorhanden sein, deren Wirkung bei der Verdünnung abnimmt. Auffallend ist nun weiter, daß diese Hemmsubstanz bei pH 3,25

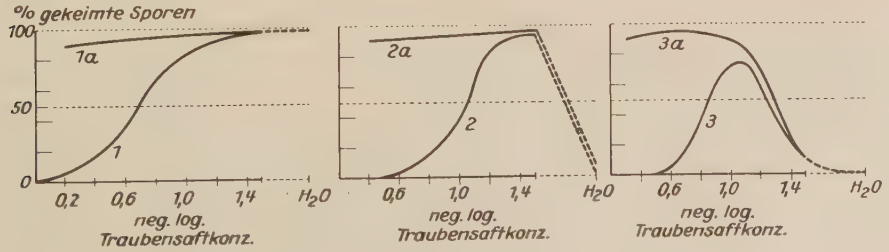


Fig. 6. Keimung in Traubensaft-Wasser und in Traubensaft-Cu-Gemischen. Als Abszisse wurde die Verdünnung des Traubensaftes logarithmisch aufgetragen

sehr deutlich, bei pH 4,1 dagegen kaum in Erscheinung tritt (Kurven 1 a, 2 a und 3 a der Fig. 6). In weiteren Versuchen ließ sich zeigen, daß diese Hemmung nicht dem reichlich vorhandenen Zucker des Saftes zugeschrieben werden kann. Vielmehr handelt es sich um den Gerbstoff (unser Saft war durch Zermahlen der Beeren im Turmix gewonnen und deshalb reich an Gerbstoffen). Dies ergab sich aus folgenden Versuchen:

1. Keimung tritt ein im Saft aus milden Birnen, nicht dagegen in herben, d. h. gerbstoffreichen Birnsäften.
2. Durch Zusatz von Gelatinelösung zu Fruchtsäften wird erfahrungsgemäß in erster Linie Gerbstoff gefällt. Nach Behandlung mit genügend Gelatine zeigte unser Traubensaft tatsächlich keine Keimungshemmung mehr.

Im Detail haben wir festgestellt, daß die Keimung durch große Gerbstoffkonzentrationen verhindert wird; bei kleinen Konzentrationen dagegen wird nur ein kurzer und in vielen Fällen ein bloß andeutungsweise entwickelter Keimschlauch gebildet, welcher nicht zur normalen Länge auswächst. Für die Auszählung haben wir auch die sehr kurzen Keimschläuche als „gekeimt" betrachtet. Die Zahlen der Tab. 8 und 9 beruhen zu einem großen Teil auf der Zählung von solch kurzen Keimschläuchen.

Die Tatsache, daß Gerbstoffe die Keimung zu hemmen vermögen, steht in Parallele zur Hemmwirkung von Gerbstoffen gegenüber andern Mikroorganismen. So ist es z. B. eine alte Erfahrung, daß bei der Vergärung von gerbstoffreichen Obst- und Traubensäften leicht Gärstockungen auftreten. Die „konservierende" Wirkung der Gerbstoffe hängt möglicherweise mit ihrem phenolähnlichen Aufbau zusammen; Phenole werden immer wieder als Konservierungsmittel empfohlen, und neuerdings hat z. B. RENNERFELDT (1943, 1946) nachgewiesen, daß die im Holz vorkommenden Phenole einen Schutz gegen holzzerstörende Pilze ausüben können.

Auf die interessante Frage, weshalb die Wirkung des Gerbstoffs so auffallend stark vom pH abhängt, konnten wir leider nicht näher eintreten.

Kehren wir nochmals zu unsern Kurven 1—3 der Fig. 6 zurück, so ergibt sich nun folgendes Bild: Die Kurve 1 zeigt die Hemmwirkung des Gerbstoffs. Mit zunehmender Verdünnung sinken sowohl die Gerbstoff- als auch die H-Ionenkonzentration, so daß die Keimungsbedingungen immer günstiger werden. Bereits bei einer Verdünnung 1 : 18 erfolgt volle Keimung. Gehen wir zur Kurve 2 über, bei welcher die Konzentration an totalem Cu stets 5.10^{-5} Mol/lt beträgt, so ergibt sich ein ganz ähnliches Bild. Im linken Teil der Kurve zeigt sich die Hemmwirkung des Gerbstoffs, welche mit zunehmender Verdünnung verschwindet. Von einer Cu-Wirkung ist selbst bei 30-facher Verdünnung des Saftes, offenbar als Folge des Gehaltes an Cu-inaktivierenden Substanzen, noch nichts zu sehen. Erst bei „unendlicher Verdünnung", d. h. in dest. Wasser tritt die fungizide Kraft des Kupfers voll in Erscheinung. — Die Kurve 3 wurde in Gegenwart einer 10mal größern Konzentration an totalem Cu aufgenommen ($Cu_{Total} = 5.10^{-4}$). Gegen eine so beträchtliche Cu-Konzentration behalten die Cu-inaktivierenden Substanzen des Saftes nun nicht mehr die absolute Herrschaft. Die Kurve ist so zu ver-

stehen: Im Scheitelpunkt bewirkt der Gerbstoff wegen hinreichender Verdünnung bloß schwache Hemmung; hingegen genügen hier die Cu-inaktivierenden Stoffe noch zur weitgehenden Ausschaltung des Kupfers. Im nach rechts absteigenden Teil der Kurve, d. h. mit zunehmender Verdünnung gewinnt das Cu^{+2} immer mehr die Oberhand; im nach links absteigenden Kurvenstück, d. h. mit zunehmender Konzentration, kommt der Gerbstoff immer mehr zur Geltung.

Nachdem nun die Cu- inaktivierende Wirkung des Traubensaftes nachgewiesen war, stellten wir in weiteren Versuchen fest, daß diese Wirkung auch bei 100facher Verdünnung noch beträchtlich sein kann. In der Natur darf also der aus verletzten Beeren austretende Saft durch Regen weitgehend verdünnt werden, ohne seine Wirkung völlig einzubüßen.

Auf die Frage, welchen Beitrag die einzelnen Bestandteile des Traubensaftes zur Cu-Inaktivierung leisten, sind wir nicht weiter eingegangen; sie schien uns von untergeordneter Bedeutung. Immerhin haben wir berechnet, daß die im Traubensaft vorhandenen Konzentrationen an organischen Säuren, Metallionen und H-Ionen ausreichen, um unsere Beobachtungen nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ zu erklären.

5. Cu + Blattdialysate

Wir haben einleitend auf die Inaktivierung des Kupfers auf lebenden Blättern hingewiesen. Diese Inaktivierung ist schon von verschiedenen Autoren nachgewiesen worden (R. W. Marsh, 1936; Blumer u. Kundert, 1950), aber die eigentlichen Ursachen der Erscheinung blieben bis heute unbekannt. Um der Frage näher zu treten, haben wir folgende Versuche angestellt:

a) Nachweis der Cu-Inaktivierung durch das Blatt

Die Inaktivierung des Kupfers durch das Blatt läßt sich auf verschiedene Weise demonstrieren; z. B. kann man wie folgt vorgehen: Mit einer $CuSO_4$-Reihe wird eine Keimungskurve aufgenommen, und mit denselben Lösungen wird ein Parallelversuch ausgeführt, bei dem die Keimungstropfen jedoch nicht auf gläserne Objektträger, sondern auf frisch gepflückte, ungespritzte Rebenblätter gebracht werden. (Über die angewandte Methode siehe Blumer und Kundert 1950, p. 187.)

Ein solcher Versuch wird durch die Tab. 10 wiedergegeben. Es geht daraus hervor, daß die Cu-Wirkung auf dem Blatt ganz bedeutend schwächer ist als auf Glas.

Eine weitere Möglichkeit, die Cu-Inaktivierung nachzuweisen, ergibt sich durch die Verwendung von Blattdialysaten:

Frische Blätter von ungespritzten Reben wurden in Feuchtschalen ausgebreitet, und die Oberfläche der Blätter mit einer großen Zahl von Wassertropfen (2 × dest. Wasser) belegt. Nach 20 Stunden wurden die Tropfen mit einer feinen Pipette wieder abgesaugt und in einer Glasflasche gesammelt. Einen Teil dieses „Blattdialysates" konzentrierten wir für die nachfolgenden Versuche im Vakuum.

Tabelle 10

Vergleich der Keimung auf Glas und auf Rebenblättern in %

	Keimung auf Glas		Keimung auf Blatt
Totales $CuSO_4$	pCu		
$1{,}0.10^{-4}$ Mol/lt	4,0	0	0
$6{,}3.10^{-5}$ Mol/lt	4,2	0	0
$4{,}0.10^{-5}$ Mol/lt	4,4	0	7
$2{,}5.10^{-5}$ Mol/lt	4,6	0	15
$1{,}6.10^{-5}$ Mol/lt	4,8	0	36
$1{,}0.10^{-5}$ Mol/lt	5,0	12	84
$6{,}3\ 10^{-6}$ Mol/lt	5,2	30	90
$4{,}0.10^{-6}$ Mol/lt	5,4	86	94
$2{,}5.10^{-6}$ Mol/lt	5,6	90	95
Kontrolle in Wasser		94	95

Die nun folgenden Keimversuche bezweckten, die Cu-inaktivierende Wirkung des Dialysates nachzuweisen. Zur Herstellung der Sporensuspension benützten wir das Dialysat selbst und bei der Kontrollreihe dest. Wasser. Wir erhielten die Resultate der Tab. 11.

Tabelle 11

Einfluß des Blattdialysates auf die Cu-Wirkung (Keimung in %)

I	II		III	IV	V
	Kontrollversuch in Wasser		Dialysat	Dialysat 10 × konz.	Dialysat 100 × konz.
Totales Cu	pCu				
$1{,}6.10^{-4}$ Mol/lt	3,8	0	0	0	53
$1{,}0.10^{-4}$ Mol/lt	4,0	0	0	0	81
$6{,}3.10^{-5}$ Mol/lt	4,2	0	0	2	90
$4{,}0.10^{-5}$ Mol/lt	4,4	0	0	16	
$2{,}5.10^{-5}$ Mol/lt	4,6	0	1	72	
$1{,}6.10^{-5}$ Mol/lt	4,8	0	10	80	
$1{,}0.10^{-5}$ Mol/lt	5,0	12	53	83	
$6{,}3.10^{-6}$ Mol/lt	5,2	35	77	91	
$4{,}0.10^{-6}$ Mol/lt	5,4	82	88	91	
$2{,}5.10^{-6}$ Mol/lt	5,6	85	92	90	
Kontrolle		92	93	94	92

Kol. I enthält die bei der Keimung anwesende Cu-Konzentration. Für die Lösungen der Kol. II, wo das totale Cu^{+2} sicher dem freien Cu^{+2} gleich war, wurden zudem die pCu-Werte angegeben (vgl. Kapitel über Komplexbildung). Die Zahlen der Tab. 11 ließen sich in mehreren Versuchen gut reproduzieren. Sie beweisen, daß das Dialysat eine Cu-inaktivierende Substanz enthält, denn mit steigenden Zusätzen verschiebt sich der LD_{50}-Wert in Richtung höherer Cu-Konzentrationen.

In einem weitern Versuch haben wir verschiedene Arten der Cu-Inaktivierung miteinander verglichen (Tab. 12 und Fig. 7):

Tabelle 12

Vergleich von verschiedenen Methoden zum Nachweis der Cu-Inaktivierung (Keimung in %)

	I		II	III	IV
	Kontrollversuch in Wasser		Dialysat	$CuSO_4$ v. Blatt	Keimung auf Blatt
Totales Cu	pCu				
$1{,}6.10^{-4}$ Mol/lt	3,8	0	0	0	0
$1{,}0.10^{-4}$ Mol/lt	4,0	0	0	0	0
$6{,}3.10^{-5}$ Mol/lt	4,2	0	0	0	0
$4{,}0.10^{-5}$ Mol/lt	4,4	0	0	0	0
$2{,}5.10^{-5}$ Mol/lt	4,6	0	0	9	15
$1{,}6.10^{-5}$ Mol/lt	4,8	0	15	68	36
$1{,}0.10^{-5}$ Mol/lt	5,0	12	57	91	84
$6{,}3.10^{-6}$ Mol/lt	5,2	30	82	94	90
$4{,}0.10^{-6}$ Mol/lt	5,4	86	90	95	94
$2{,}5.10^{-6}$ Mol/lt	5,6	90	95	94	95
Kontrolle		94			

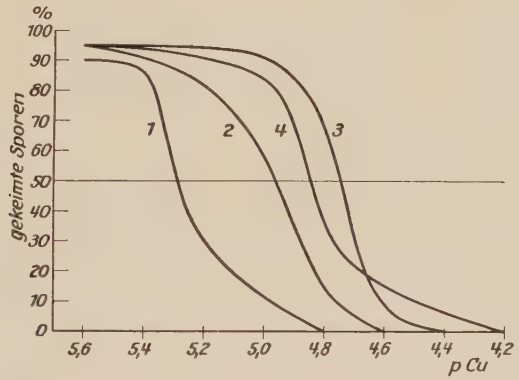


Fig. 7. Nachweis der Cu-Inaktivierung durch das Blatt

Kurve 1: Keimung in $CuSO_4$ auf Glas
„ 2: Keimung in $CuSO_4$ auf Glas unter Zusatz von Dialysat
„ 3: Keimung in $CuSO_4$ auf Glas; $CuSO_4$ zuvor auf Blätter gebracht
„ 4: Keimung in $CuSO_4$ auf Blättern

Kol. I (Kurve 1) zeigt die Keimung in reinen $CuSO_4$-Lösungen; der LD_{50}-Wert liegt bei pCu 5,3. In den Kol. II—IV (Kurven 2—4) wurde das Cu auf verschiedene Arten inaktiviert, weshalb die LD_{50}-Werte verschieden stark in Richtung höherer Cu-Konzentrationen verschoben sind. Für die Kurve 4 wurde die bereits erwähnte Methode der Keimung auf Blättern angewendet. Für die Kurve 3 brachten wir jede der $CuSO_4$-Lösungen über Nacht auf Blätter, sammelten sie am nächsten Morgen getrennt und ließen nach Zugabe von Sporensuspensionen auf Glas keimen.

Schließlich wurde ein ähnlicher Versuch mit Bordeauxbrühe angesetzt, um zu prüfen, wie weit sich unsere Ergebnisse auch auf ein in der Praxis verwendetes Kupferfungizid übertragen lassen (Tab. 13).

Tabelle 13

Wirkung von Blattdialysaten auf Spritzbeläge von Bordeauxbrühe

Spritzkonzentration in gr Cu pro 100 lt Brühe	Wasser	Dialysat	Dialysat 5 × konz.	Dialysat 10 × konz.
	% gek. Sporen	% gek. Sporen	% gek. Sporen	% gek. Sporen
125			0	17
62,5			1	28
31,25			13	71
15,6			26	97
7,8	2	5	73	91
3,9	25	53	92	
1,95	85	80	93	
Kontrolle	94			

Die Versuchsanordnung war diejenige, wie sie bei der Mittelprüfung angewendet wird: Eine Reihe von Objektträgern wurde im Spritzapparat mit Bordeauxbrühe verschiedener Konzentration bespritzt (Kol. I). Nach dem Antrocknen brachten wir Tropfen von Sporensuspension auf die Objektträger. Die Sporen befanden sich in Wasser (Kol. II) und in Dialysat verschiedener Konzentration (Kol. III—V). Ausführliches über die Spritzmethode vgl. BLUMER und KUNDERT, 1950, p. 162—166.

Aus der Tab. 13 geht hervor, daß tatsächlich auch Bordeauxbrühe durch das Blattdialysat inaktiviert wird. Dieser Versuch widerlegt gleichzeitig die in der Einleitung erwähnte Cu-Lösungstheorie, wonach Spritzbeläge erst durch Ausscheidungen des Blattes in eine wirksame Form gebracht werden. Wie man sieht, haben die Blattausscheidungen in den von uns beobachteten Fällen nicht aktivierende, sondern inaktivierende Wirkung.

b) Nachweis einer keimungshemmenden Substanz im Dialysat

Bei unsern Versuchen machten wir die Beobachtung, daß die Sporen in Cu-Dialysatgemischen nicht mehr voll keimten, wenn das Dialysat vor dem Versuch einige Tage stehen gelassen wurde. Wir vermuteten daher zunächst, daß der Cu-inaktivierende Bestandteil beim Stehen durch irgend eine chemische Reaktion (z. B. Oxydation) zerstört werde. Wie wir jedoch fanden, vermögen die Sporen in älteren Dialysaten auch in Abwesenheit von $CuSO_4$ bloß zu etwa 60—70% zu keimen.

Auf Grund zahlreicher Versuche nehmen wir heute an, daß das Blattdialysat neben Cu-inaktivierenden Substanzen noch die Vorstufe eines keimungshemmenden Stoffes enthält, der sich erst beim Stehenlassen ausbildet. Wir haben später gefunden, daß die Bildung der Hemmsubstanz aus ihrer Vorstufe durch Lüften des Dialysates beschleunigt wird; wahrscheinlich spielt sich bei diesem Lüften ein Oxydationsvorgang ab. Dagegen werden die Eigenschaften des Dialysates durch Sieden nicht wesentlich verändert. Einige Versuche sollen diese Verhältnisse verdeutlichen (Tab. 14 und Fig. 8). (Um stärkere Effekte zu erhalten, wurde das Dialysat vor seiner Verwendung auf $^1/_{10}$ seines Volumens konzentriert):

Tabelle 14

Nachweis einer keimungshemmenden Substanz im Dialysat (Keimung in %)

	I		II	III	IV
	Wasser		Dialysat	Dialysat gekocht	Dialysat gelüftet
Totales Cu	pCu				
$1{,}6.10^{-4}$ Mol/lt.....	3,8		39	7	7
$1{,}0.10^{-4}$ Mol/lt.....	4,0		50	30	15
$6{,}3.10^{-5}$ Mol/lt.....	4,2		79	40	50
$4{,}0.10^{-5}$ Mol/lt.....	4,4		89	79	65
$2{,}5.10^{-5}$ Mol/lt.....	4,6	0	94	89	63
$1{,}6.10^{-5}$ Mol/lt.....	4,8	0	96	95	68
$1{,}0.10^{-5}$ Mol/lt.....	5,0	6			74
$6{,}3.10^{-6}$ Mol/lt.....	5,2	29			
$4{,}0.10^{-6}$ Mol/lt.....	5,4	84			
$2{,}5.10^{-6}$ Mol/lt.....	5,6	92			
Wasser.....		96			73

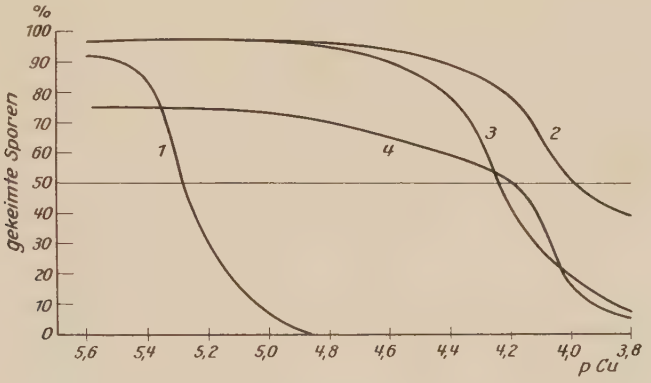


Fig 8. Nachweis einer keimungshemmenden Substanz im Dialysat

Kurve 1: Keimung in $CuSO_4$
„ 2: Keimung in $CuSO_4$ unter Zusatz von unbehandeltem Dialysat
„ 3: Keimung in $CuSO_4$ unter Zusatz von gekochtem Dialysat
„ 4: Keimung in $CuSO_4$ unter Zusatz von gelüftetem Dialysat

Während Kol. I (Kurve 1) die Keimung in reinen $CuSO_4$-Lösungen wiedergibt, zeigen Kol. II—IV (Kurven 2—4) die Keimung in Mischungen von Dialysat mit $CuSO_4$. Für Kol. II wurde das Dialysat im Vakuum bei 30—40 ° C konzentriert, für Kol. III dagegen bei gewöhnlichem Druck und 100 ° C. Wie man sieht, scheint bei der höheren Temperatur etwas von der inaktivierenden Wirkung verlorenzugehen. Bei Kol. IV (Kurve 4) wurde während 4 Stunden ein Luftstrom durch das Dialysat geleitet und dieses hierauf im Vakuum konzentriert. Nach dieser Belüftung enthält die Lösung außer den Cu-inaktivierenden Substanzen zusätzlich einen Hemmstoff, welcher die Keimungsziffern stark herunterdrückt.

Wir werden noch zeigen, daß sich das Dialysat in 2 verschiedene Fraktionen zerlegen läßt. Die eine (I) löst sich nach dem Eindampfen zur Trockene wieder ziemlich leicht in Wasser, während die andere (II) ungelöst

zurückbleibt und durch Zentrifugieren abgetrennt werden kann. Wir haben nun gefunden, daß unsere Hemmsubstanz in die unlösliche Fraktion (II) gehört. Es wird nämlich k e i n Hemmstoff gebildet, falls das Dialysat vor dem Lüften bis zur Trockene eingedampft, mit Wasser wieder aufgelöst und hierauf vom unlöslichen Rückstand abzentrifugiert wird. Die Vorstufe des Hemmstoffes scheidet sich somit beim Eindampfen in unlöslicher Form aus. — Dagegen wird die Cu-inaktivierende Wirkung des Dialysates durch das Verdampfen zur Trockene nicht beeinträchtigt.

Über die Natur des Hemmstoffes wissen wir wenig. Möglicherweise handelt es sich um eine gerbstoffähnliche Verbindung. Für eine solche Vermutung spricht zunächst die keimungshemmende Wirkung der Substanz und ihre Fähigkeit, mit O_2 reagieren zu können. Ein weiterer Hinweis in dieser Richtung ist die Tatsache, daß sich das Dialysat beim Eindampfen gelb färbt; der gelbe Farbstoff gleicht in seinen Eigenschaften weitgehend dem gelben Weinfarbstoff, welcher seinerseits den Gerbstoffen nahesteht. Schließlich spricht dafür auch die Beobachtung, daß sich beim Eindampfen des Dialysates braune, gerbstoffähnliche Flocken bilden (Fraktion II), welche kaum mehr in Lösung zu bringen sind.

c) Analyse der Cu-inaktivierenden Substanz

Da wir zu Beginn der Analyse von der Erscheinung des Ionenantagonismus bei Sporen noch nichts wußten, hofften wir, im Dialysat einen intensiv wirkenden Cu-Komplexbildner, z. B. eine Aminosäure oder ein Fällungsmittel für Cu^{+2}, wie z. B. Phosphat, zu finden. Allerdings waren uns keine Literaturangaben bekannt, wonach solche Stoffe vom Blatt ausgeschieden würden. Für unsere Analyse verfuhren wie wie folgt:

770 cm³ farbloses Blattdialysat, welches nach der Tröpfchentechnik gewonnen worden war, wurde zur Entfernung von anwesenden Pflanzenfasern durch Papier filtriert. Das Filtrat wurde nun im Vakuum zur Trockene verdampft; dabei färbte sich die Flüssigkeit gelblich, dann gelb, zuletzt braun und trüb. Auf diese Weise gelangten wir zu einigen Milligramm einer braunen Trockensubstanz. Wir schlämmten diese in 10 cm³ 2 × dest. Wasser auf, wobei eine gelbe Lösung (Fraktion I) entstand, während unlösliche braune Flocken (Fraktion II) zurückblieben. Durch Zentrifugieren wurden diese Flocken abgetrennt.

Keimversuche ergaben, daß die wasserlösliche Fraktion I weiterhin Cu inaktiviert (Kol. V der Tab. 15). Deshalb führten wir mit der Lösung I folgende empfindliche Reaktionen auf Cu-bindende Substanzen aus:

$FeCl_3$-Reaktion auf Phenol- und Enolartige Substanzen,
Ninhydrinreaktion auf Aminosäuren,
Molybdänblaureaktion auf Phosphat.

Alle diese Reaktionen verliefen negativ. Ebenso negativ war die weniger empfindliche, unspezifische Probe auf Komplexbildner mittels eines Cu-Murexid-Gemisches. Auch ging die inaktivierende Wirkung beim Behandeln der Lösung mit Anionenaustauscher nicht verloren. — Dagegen ließen sich mittels des Metallindikators Eriochromschwarz T kleine Mengen Erdalkali nachweisen (SCHWARZENBACH, 1948).

Wir wußten nun folgendes: Das Dialysat enthält neben einem keimungshemmenden Stoff eine Cu-inaktivierende Substanz, welche beständig ist gegen Luft und Kochen. Sie ist wasserlöslich und wahrscheinlich nicht ein

Anion. Im Dialysat lassen sich Erdalkalien nachweisen. Da uns aus der Literatur bekannt war, daß von der Blattoberfläche beträchtliche Mengen an K^+ und Ca^{+2} ausgeschieden werden (ARENS, 1934), richteten wir in der Folge unser Augenmerk vor allem auf anorganische Bestandteile. Wir begannen mit den früher beschriebenen Versuchen über Ionenantagonismus und bemühten uns, als diese positiv ausfielen, im Dialysat Metallionen nachzuweisen. Doch standen uns nur einige Milligramm an getrocknetem Dialysat zur Verfügung; diese kleine Menge reichte natürlich für eine eingehende Analyse nicht aus.

Um zu größeren Mengen an Trockensubstanz zu gelangen, entschlossen wir uns, die Tröpfchentechnik, welche zeitraubend ist und spärliche Ausbeuten gibt, zu verlassen. Statt dessen legten wir unverletzte Blätter von ungespritzten Reben über Nacht in 2 × dest. Wasser. Auf diese Weise erhält man, allerdings unter weniger naturähnlichen Bedingungen, ebenfalls Dialysate. Diese Dialysate gleichen den früher gewonnenen sehr weitgehend, doch sind sie viel gehaltreicher. Wie erwartet, vermögen sie Cu^{+2} besonders gut zu inaktivieren.

Wir brachten 1,3 lt 2 × dest. Wasser mit einer Blattfläche von 6600 cm^2 über Nacht in Berührung. Das Dialysat wurde filtriert, eingedampft und bei 550° verascht. Es resultierten 0,390 gr einer weißen bis schwach grauen Asche, welche viel Carbonat enthielt:

Ca als Carbonat	0,274 gr	=	66,2% der Asche
Mg „ „	0,031 gr	=	7,4%
K „ „	0,082 gr	=	19,8%
			93,4%.

Obschon wir in der Asche weiterhin 5,4% Sulfat fanden, haben wir die Metalle als Carbonate angegeben. Hätten wir noch den Sulfatgehalt berücksichtigt, so wäre der Fehlbetrag zu 100% noch kleiner geworden.

Dampft man nun andrerseits Blattdialysat auf ein kleines Volumen ein, so scheiden sich aus der braunen Flüssigkeit beträchtliche Mengen weißer, glitzernder Kristalle aus. Wir haben diese abfiltriert, mit Alkohol und Äther getrocknet und hierauf analysiert. Es zeigte sich, daß die Kristalle zu etwa 80% aus Weinstein (saures Kalisalz der Weinsäure) und zu etwa 10% aus Calciumtartrat (Kalksalz der Weinsäure) bestanden. — Auf die Analyse weiterer Bestandteile des Dialysates wurde verzichtet.

Der relativ hohe Gehalt an Antagonisten wie K^+, Ca^{+2} und an Komplexbildnern (Weinsäure) erklärt uns ohne weiteres die Cu-inaktivierende Wirkung des Dialysates. Wie beim Traubensaft haben wir auch in diesem Fall nicht versucht, den Anteil der einzelnen Substanzen an der Kupferinaktivierung zu ermitteln.

6. $CuSO_4$ + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxbrühe)

Über Bordeauxbrühe ist schon sehr vieles und sehr Widersprechendes geschrieben worden. Wir möchten uns darauf beschränken, einige Probleme zu beleuchten, die uns wesentlich erscheinen.

Die Wirkung von $Cu(OH)_2$

Nachdem wir die Wirksamkeit des freien und die Unwirksamkeit des komplexgebundenen Kupfers nachgewiesen haben, bliebe noch das Verhalten von kolloidalem $Cu(OH)_2$ abzuklären, welches bekanntlich bei der Herstellung der Bordeauxbrühe entsteht. Da das Kupfer im $Cu(OH)_2$ nicht als freies Cu^{+2}-Ion, sondern in sehr fester Bindung vorliegt, scheint uns eine fungizide Wirkung des $Cu(OH)_2$ zum vorneherein unwahrscheinlich zu sein. Tatsächlich stimmen denn auch die meisten Autoren in diesem Punkte überein. In zahlreichen Experimenten wurde die Unwirksamkeit von frisch gefälltem $Cu(OH)_2$ nachgewiesen (vgl. z. B. SCHMIDT, 1924; MCCALLAN, 1949).

Die Kompliziertheit der Bordeauxbrühe

Bordeauxbrühe entsteht durch Mischen von $CuSO_4$ und $Ca(OH)_2$, welche sich zu $Cu(OH)_2$ und $CaSO_4$ umsetzen. In Wirklichkeit muß man jedoch noch mit kompliziertern Reaktionen rechnen, z. B. mit der Bildung von basischen Kupfersulfaten von denen es wiederum verschiedene gibt. Eine weitere Komplizierung entsteht durch die Tatsache, daß Ca-Ionen die Umwandlung von Cu-Hydroxyden in wasserärmeres, braunes Cu-Oxyd erschweren, somit also die Stabilität des Hydroxyds erhöhen (z. B. MARTIN, 1940).

Schließlich werden unter dem Einfluß der Luftkohlensäure noch Karbonate und Bikarbonate des Calciums und des Kupfers gebildet. Damit allein liegt bereits eine schwer überblickbare Fülle von chemischen Möglichkeiten und Gleichgewichten vor. Nun muß aber noch der Umstand berücksichtigt werden, daß das Ca-Ion, besonders in Gegenwart von Sulfat, einen Antagonisten des Kupfers darstellt (siehe p. 313). Zu allem Überfluß kommt ferner die Inaktivierung des Kupfers durch Blattausscheidungen dazu. Das System Bordeauxbrühe ist demnach so unübersichtlich, daß eine saubere quantitative Behandlung kaum möglich erscheint. — Auf eine weitere Frage, welche bisher allerdings gar nie als Problem erkannt wurde, möchten wir zum Schluß noch hinweisen:

Unklare Grundlagen bei der Bewertung von Fungiziden

Die Anwendung des Sporenkeimtestes auf die Begutachtung von Cu^{+2}-Fungiziden des Handels wird im allgemeinen so ausgeführt, daß man die Sporen auf Objektträgern keimen läßt, die mit steigenden Mengen des Fungizids bespritzt worden sind. Dieser Test ist chemisch zunächst ganz unverständlich. Es ist nämlich unbegreiflich, daß die verschiedenen Mengen an Spritzbelag verschieden stark wirken sollen. Denn ein Niederschlag vermag sich stets nur soweit zu lösen, bis die Lösung daran gesättigt ist; der Überschuß bleibt ungelöst als Bodenkörper. Da die basischen Cu-Niederschläge, aus denen die Bordeauxbrühe besteht, ziemlich schwerlöslich sind, darf man annehmen, daß sich der Spritzbelag keinesfalls vollständig im darauf gelegten Wassertropfen löse, sondern daß stets etwas Bodenkörper zurückbleibe. In

diesem Fall wäre die gelöste Menge Fungizid unabhängig von der Menge des Spritzbelages und daher in allen Tropfen gleich groß.

In Tat und Wahrheit beobachtet man jedoch bei stärkern Spritzbelägen höhere fungizide Wirkung. Es mag sein — einige Versuche deuten darauf hin — daß sich bei sehr dünnen Belägen tatsächlich der ganze mit dem Tropfen in Kontakt stehende Bodenkörper auflöst. Immerhin scheint uns die ganze Frage, auf der doch alle Bewertungsmethoden basieren, noch sehr wenig abgeklärt zu sein.

IV. Diskussion und Zusammenfassung

Wir sind bei unserer Arbeit vom Begriff der Verfügbarkeit (availability) ausgegangen. Um wirksam zu werden, muß das gespritzte Kupfer in Lösung gehen, aber dieser Vorgang garantiert noch nicht die volle Aktivität des Fungizids; auch im gelösten Zustand kann das Kupfer(II) unwirksam bleiben. Im folgenden möchten wir die verschiedenen Stufen noch einmal in natürlicher Reihenfolge vor Augen stellen.

1. Das gefällte Kupfer

Fast alle Autoren sind sich einig, daß das gefällte Kupfer (z. B. in Form des Hydroxyds, des basischen Sulfats, des basischen Chlorids usw.) unwirksam bleibe. Wir haben uns deshalb mit gefälltem Kupfer nicht näher beschäftigt.

2. Die Auflösung des gespritzten Kupfers

Über die verschiedenen Cu-Lösungstheorien haben wir in der Einleitung bereits gesprochen. Sie wurden aufgestellt, um den Übergang des gespritzten Kupfers in den gelösten, d. h. toxisch wirkenden Zustand zu erklären. Nun erlauben es unsere Ergebnisse, auch hier einen Diskussionsbeitrag zu leisten:

Am meisten dürfte wohl die Ansicht anerkannt sein, daß unter dem Einfluß der Luftkohlensäure eine pH-Senkung eintritt, wodurch die Löslichkeit des Hydroxyds steigt. Diese Erklärung erscheint auch uns die wahrscheinlichste; sie ist durch die sorgfältigen, leider wenig beachteten Versuche von Schmidt (1924) zugleich am besten fundiert. Dagegen können wir der „Selbstmordtheorie", welche heute vor allem von McCallan (1930, 1949) vertreten wird, nicht beistimmen. McCallan behauptet, daß das $Cu(OH)_2$ durch die Pilzspore selbst aufgelöst werde, indem diese bei der Keimung organische Säuren wie Äpfelsäure und Aminosäuren ausscheide. Diese Ansicht stützt sich auf Versuche mit Sporenexkretionen, in welchen z. B. Äpfelsäure nachgewiesen wurde und welche tatsächlich das Kupfer zu aktivieren vermochten. Nun möchten wir zwar nicht die Resultate McCallans anzweifeln, wohl aber ihre Verwendung als Stütze der „Selbstmordtheorie" kritisieren. Denn gerade Äpfelsäure und Aminosäuren sind gute Komplexbildner für Kupfer. Nach unserer Ansicht könnte das Kupfer wohl aufgelöst werden, würde jedoch in der Nähe der Sporen durch örtliche Überschüsse an Äpfelsäure komplex abgebunden; in diesem Zustande wäre es, wie wir gezeigt haben, ohne fungizide Wirkung. Die (dritte) Theorie, wonach das

Kupfer erst durch Ausscheidungen des Blattes in Lösung gebracht wird, besitzt angesichts unserer Versuche mit Blattdialysaten ebenfalls einen sehr geringen Grad von Wahrscheinlichkeit.

3. Inaktivierung des gelösten Kupfers durch Komplexbildner

Auch nach seiner Auflösung kann das Kupfer unter Umständen inaktiv bleiben; als inaktivierende Substanzen haben sich z. B. folgende Komplexbildner erwiesen: Äpfelsäure, Weinsäure Glykokoll usw. Am Beispiel des Glykokolls konnten wir den quantitativen Nachweis erbringen, daß die fungizide Wirkung lediglich vom Gehalt an freien Cu^{+2}-Ionen, nicht dagegen vom komplex gebundenen Kupfer abhängt; diese Versuche wurden mit Hilfe von sog. Metallpuffern ausgeführt, deren Wesen und Berechnung eingehend erklärt werden. Metallpuffer gleichen sehr weitgehend den bekannten pH-Puffern. — Unseres Wissens ist die Anwendbarkeit der Metallpuffer und der dazugehörigen Begriffe auf biologischem Gebiet bisher nie quantitativ erprobt worden. Voraussichtlich werden sich auch weitere Fragen ähnlicher Art (z. B. Salzaufnahme der Mikroorganismen usw.) auf diese Weise behandeln lassen.

Unsere Resultate stehen teilweise im Widerspruch zu den Ansichten von MARTIN et al. (1942) und von BODNAR und TERENYI (1930). Die genannten Autoren behaupten nämlich, daß das komplex gebundene Kupfer ebenfalls, unter Umständen sogar besonders stark fungizid wirke. Wir möchten hier nicht näher auf diese Differenz eintreten aber doch betonen, daß die Methode der Metallpuffer allein wirklichen Aufschluß zu liefern vermag. Hinzugefügt sei, daß die genannten Autoren von einer etwas andern Problemstellung ausgingen und deshalb andere Versuchsmethoden benützten. Schließlich waren auch ihre Testpilze nicht die unsrigen.

4. Inaktivierung des gelösten Kupfers durch Antagonisten

Neben der rein chemischen, durch Komplexbildung verursachten Inaktivierung des gelösten Kupfers gibt es noch eine weitere, mehr biochemische Inaktivierung: Metallionen wie K^+, Na^+, Ca^{+2} sowie H^+-Ionen vermögen das Cu^{+2}-Ion von der Sporenoberfläche zu verdrängen, dadurch die Cu-Resorption und somit die Vergiftung zu verhindern. Je größer die Konzentration des Antagonisten, desto deutlicher seine Wirkung. Es scheint demnach daß die Sporenoberfläche die Eigenschaften eines Ionenaustauschers besitzt. — Von Interesse ist das Verhalten von Ca, dessen antagonistiche Wirkung durch die Gegenwart von Sulfat eine unerwartete Steigerung erfährt. Besonders drastisch zeigt sich schließlich der Antagonismus zwischen dem H^+-Ion und dem Cu^{+2}-Ion: Diese Ionenarten wirken beide an sich fungizid, vermögen einander jedoch von der Sporenoberfläche zu verdrängen, so daß als Folge die Sporen unter scheinbar sehr ungünstigen Bedingungen ohne weiteres zu keimen vermögen.

5. Inaktivierung durch Traubensaft und Blattdialysate

Sowohl Traubensaft als Dialysate von Rebenblättern vermögen das gelöste Kupfer (II) zu inaktivieren; die Inaktivierung läßt sich ohne weiteres

aus dem Gehalt dieser Flüssigkeiten an Metallionen, H-Ionen und Komplexbildnern erklären. Eine gewisse Komplizierung der Versuche entsprang dem Umstand, daß der Traubensaft selbst eine keimungshemmende Substanz (Gerbstoff) enthält, und daß im Blattdialysat die Vorstufe eines keimungshemmenden Stoffes vorkommt.

6. Weitere Formen der Cu-Inaktivierung

Komplexbildung und Ionenantagonismus sind wahrscheinlich nicht die einzigen Wege, mit deren Hilfe die Pflanze das gelöste Kupfer auszuschalten vermag. Mit einer weitern Möglichkeit, nämlich der unbedeutenden Wanderung des Kupfers ins Blattinnere haben wir uns jedoch nicht beschäftigt. Dieser Vorgang, welcher von MILLARDET (1885, 1887) beschrieben wurde, stellt natürlich ebenfalls eine Form der Cu-Inaktivierung dar. Zwar trifft man gelegentlich die Ansicht, das eingedrungene Kupfer wirke auch noch im Zellinnern als Fungizid und vermöge von dort aus die Pflanzenzelle vor Infektion zu schützen (z. B. RECKENDORFER, 1947). Eine solche Vorstellung scheint uns jedoch gänzlich abwegig zu sein; wir sind im Gegenteil davon überzeugt, daß das Kupfer im Zellinnern besonders leicht durch Komplexbildner und Antagonisten inaktiviert wird. — Auf die Frage nach der Entfernung der Spritzbeläge durch das Regenwasser sind wir ebenfalls nicht eingetreten, da wir damit unser eigentliches Thema verlassen hätten. —

7. Bedeutung für die Praxis

Fragen wir uns schließlich, welche praktischen Konsequenzen sich aus unseren Erkenntnissen ergeben. Zunächst ist zu berücksichtigen, daß die Ausscheidung von Kationen und Komplexbildnern durch die Pflanze sicher keine konstante Größe ist sondern von der Sorte, von Standort, Wetter, Jahreszeit und Jahrgang abhängen dürfte. Somit wird auch die Inaktivierung des gespritzten Kupfers eine stets wechselnde Größe sein. Wir müssen zugeben, daß wir die Exkretionsvorgänge der Pflanze kaum künstlich beeinflussen können. Trotzdem dürfte es wertvoll sein, weitere Beobachtungen über die Cu-Inaktivierung zu sammeln.

Die verschiedenen Arten der Kupferinaktivierung können sich in der Praxis in Form von Mißerfolgen auswirken. Allerdings wollen wir nicht behaupten, jedes Versagen von Kupferspritzmitteln, müsse sich auf die Inaktivierung des Kupfers durch Komplexbildner und durch Kationen zurückführen lassen. Aber immerhin ergibt sich für uns die Möglichkeit, Mißerfolge wenigstens teilweise erklären zu können. Dies dürfte bei der Prüfung und Bewertung von Cu-Fungiziden von Nutzen sein. Man wird dabei z. B. Unterschiede im Spritzerfolg mit Unterschieden in der Ausscheidung von Salzen und keimungshemmenden Stoffen zu erklären versuchen. Verschiedene Fragen bleiben aber noch offen; so haben wir für die Bewertung von Fungiziden darauf hingewiesen, daß die Zunahme der Toxizität bei Verstärkung des Spritzbelages im Widerspruch zu chemischen Überlegungen steht.

Schließlich lassen sich unsere Ergebnisse dazu benützen, bei der Herstellung von neuen Cu-Fungiziden viel zielbewußter zu arbeiten als bisher. So

wird man in Zukunft z. B. nach Möglichkeit vermeiden, den Cu-Spritzmitteln überflüssige Inaktivatoren (Komplexbildner, Kationen) zuzusetzen. Allzu schematisch sollte man dabei natürlich nicht verfahren; denn die Pilzspore ist ein Lebewesen, und man hat deshalb stets mit Überraschungen zu rechnen.

Zusammenfassung

1. An Sporen von *Alternaria tenuis* wird gezeigt, daß die fungizide Wirkung von Cu^{+2}-Verbindungen lediglich auf dem Gehalt an freien Cu^{+2}-Ionen beruht; dagegen ist komplex gebundenes Kupfer unwirksam.
2. Der Beweis hierfür wird mit Hilfe von Metallpuffern quantitativ erbracht. Das Wesen der Metallpuffer und ihre Berechnung werden erläutert.
3. Als Komplexbildner haben wir untersucht: Glykokoll, Äpfelsäure, Weinsäure, Asparagin. Äthylendiamin-tetraessigsäure (Komplexon III). Alle diese Substanzen vermögen Kupfer zu inaktivieren.
4. Eine zweite, völlig andere Art der Cu-Inaktivierung beruht auf dem Zusatz von geeigneten Kationen. Diese besetzen die Sporenoberfläche und verhindern dadurch die Cu-Resorption (Ionenantagonismus).
5. Der Ionenantagonismus wurde untersucht bei Zusatz von Na^{+}, K^{+}, Mg^{+2}, Ca^{+2} und H^{+} zur Kupferlösung. Besonders interessant ist das Verhalten von Ca^{+2} und dasjenige von H^{+}.
6. Blattausscheidungen und Traubensaft vermögen deutlich das Kupfer zu inaktivieren und zwar vor allem auf Grund ihres Gehalts an Kationen. — In beiden Flüssigkeiten wurde ferner je ein keimungshemmender Stoff nachgewiesen. Dabei handelt es sich bei Traubensaft sicher und beim Blattdialysat wahrscheinlich um Gerbstoff.
7. Die von verschiedenen Autoren aufgestellten Theorien zur Auflösung des Kupfers in Spritzbelägen werden diskutiert.
8. Die Konsequenzen für die Praxis werden besprochen.

Summary

1. Spore germination of *Alternaria tenuis* has been investigated in presence of copper compounds. It has been detected that free Cu^{+2}-ion only is able to kill the spores, whilst complex bound copper is not toxic.
2. This fact is proofed quantitatively by the application of metal buffers. Metal buffers and its computation are explained.
3. The following complex forming substances have been tested: glycocoll, malic acid, tartaric acid, asparagine, ethylenediamine-tetraacetic acid (Komplexon III). All these substances can inactivate copper.

4. Metal cations are an other group of Cu-incativators. They occupy the surface of the spore and prevent thus the Cu-resorption.

5. Ion antagonisme has been investigated for Cu against Na, Mg, Ca, H. The action of Ca and H is especially interesting.

6. Leaf excretions and grape juice can inactivate the copper based on its contents of cations. — In both — leaf excretions and juice of the grape — a substance was found inhibiting the spore germination.

7. The different theories of solubilisation of the Cu-deposits are discussed.

8. The consequences are drawn for the praxis.

Literatur

Arens, K. H., 1934. Die cuticuläre Exkretion des Laubblattes. Jahrb. wiss. Bot. **80**, p. 248.

Barth, M., 1896. Die Blattfleckenkrankheit der Rebe und ihre Bekämpfung. 4. Aufl.

Bliss, C. J., 1935. Estimating the dosage-mortality curve. Jour. Econ. Ent. **28**, p. 646.

Blumer, S. und Kundert, J., 1949. Die biologische Laborprüfung von Kupferpräparaten. Landw. Jahrb. d. Schweiz, **63**, p. 557—594.

— — und — —, 1950. Methoden der biologischen Laborprüfung von Kupferpräparaten. Phytop. Ztschr. **17**, p. 161—199.

Bodnar, J. und Terenyi, A., 1950. Biophysikalische und biochemische Untersuchungen über die Kupferadsorption der Weizensteinbrandsporen. Hoppe-Seiler's Zeitschr. f. physiol. Ch. **186**, p. 157.

Ciferri, R., 1944. Indagini tossicometriche sulli anticrittogamici XII. Resultati dell' analisi statistica di sei distribuzioni di percentuali di germinazioni. Atti Ist. Bot. Università di Pavia, Serie 5, **5**, p. 19—30.

Curtis, L. C., 1944. The influence of guttation fluid on pesticides. Phytop. **34**, p. 196—205.

Fattinger, D., 1950. Die Beeinflussung der fungiziden Wirksamkeit des Kupferions durch andere Ionen. Pflanzenschutz-Berichte **4**, p. 33—46.

Flood and Loras, 1944. Om Kopper-Glykokoll-Komplexers, Tidsskrift for Kjemi, Bergvesen og Metallurgi, **5**, p. 35.

Frey-Wyssling, A., 1935. Die Stoffausscheidung der höhern Pflanzen. Berlin. Verl. Julius Springer.

Genaud, P., 1930. Recherches sur les échanges d'ions entre cellules de levure et solutions salines. Ann. de Physiol. et de Physico Chimie biol. **6**.

Höber, R., 1947. Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe.

Horsfall, J. G., 1945. Fungicides and their action. Waltham, Mass. USA.

Lin, Ch. K., 1940. Germination of the conidia of *Sclerotinia fructicola*, with special reference to the toxicity of copper. N. Y. (Cornell) Agr. Exp. Station Mem. **233**, p. 1—33.

Marsh, P. B., 1945. Salts as antidotes to copper in the conidia of *Sclerotinia fructicola*. Phytop. **35**, p. 54—61.

Marsh, R. W., 1936. Notes on the technique for the laboratory evaluation of protective fungicides. Trans. Brit. Myc. **20**, p. 304—309.

Martin, H., 1940. The scientific principles of plant protection. London, Edward Arnold & Co. Neudruck, 1944.

Martin, Wain and Wilkinson, 1942. Studies upon the copper fungicides. Ann. appl. Biol. **29**, p. 412—438.

McCALLAN, S. E. A., 1930. Studies on fungicides III. The solvent action of spore excretion and other agencies on protective copper fungicides. N. Y. (Cornell) Agr. Exp. Sta. Mem. **128**, p. 25—79.

— —, 1949. The nature of the fungicidial action of copper and sulfur. Botanical review **15**, Nr. 9, p. 59—73.

MILLARDET, A., 1885. Ann. Soc. d'Agric. de la Gironde.

— —, 1887. Nouvelles recherches sur le développement et le traitement du mildiou et de l' anthracnose. Verl. G. Masson, Paris.

— — et GAYON, U., 1887. Recherches nouvelles sur l'action que les préparations cuivreuses exercent sur le Pérénospora de la vigne. Journ. d'Arg. prat. **51**, p. 123—139, 156—161.

MULDER, E. G., 1938. Over de beteekenis van koper voor de groei van planten en microorganismen. (Über die Bedeutung des Kupfers für das Wachstum der Pflanzen und Mikroorganismen). Dissertation, Wageningen.

NÄSÄNEN, R., 1942. Über die Löslichkeit von Kupfer(2)-hydroxyd und basischen Kupfer(2)-salzen. Ann. Acad. sci. fennicae A. LIX No. 7.

— —, 1949. Spectrophotometric study on complex formation between cupric and sulphate ions. Acta chimica scandinavia **3**, p. 179.

PEDERSEN, K. J., 1943. Acid Dissociation of the hydrated cupric ion. Danske Videnskab. Selskab, Mat. fys. Medd. **20**, nr. 7.

RECKENDORFER, P., 1947. Immunisierung als Folge von Schädlingsbekämpfung. Pflanzenschutz-Berichte, **1**, p. 65.

RENNERFELDT, E., 1943. Svensk Bot. Tidskr. **37**, H. 1.

— —, 1946. Medd. Statens Skogsforskningsinst. **35**, 8.

RUHLAND, W., 1905. Zur Kenntnis der Wirkung des unlöslichen, basischen Kupfers auf Pflanzen mit Rücksicht auf die sog. Bordeauxbrühe. Arb. d. biolog. Reichsanstalt **4**, p. 157—200.

SCHMIDT, W., 1924. Wirkung der Bordeauxbrühe. Zentralbl. f. Bakteriologie **61**, p. 356 ff.

SCHWARZENBACH, G., 1949. Die Sonderstellung des Wasserstoffions, Chimia, p. 1.

— — und ACKERMANN, H., 1947. Komplexone V, die Äthylendiamintetraessigsäure. Helv. Chim. acta **30**, p. 1789.

— — und BIEDERMANN, W., 1948. Komplexone IX. Titration von Metallen mit Äthylendiamintetraessigsäure. Helv. Chim. acta **31**, p. 459.

— — und — — 1948. Komplexone X. Erdalkalikomplexe von 0,0'-Dioxyazofarbstoffen. Helv. Chim. acta **31**, p. 678.

Laboratorium voor Phytopathologie, Wageningen—Netherlands

Pathogenic differentiation in *Phytophthora infestans* (Mont.) DeBary

Von

Helena L. G. de Bruyn

With 4 figures

Introduction

It is kown that pathogenic variations exist within many species of fungi. A good example is that of *Puccinia graminis*, in which a great many races have been found by using a range of differential wheat varieties.

With *Phytophthora infestans* the occurrence of differentiation is not so easily recognized, as all varieties of *Solanum tuberosum* are susceptible to the late blight fungus. Thus variation in infective capacity cannot be found by using ordinary potato varieties as test plants. Infection of other Solanum species or hybrids must be used to gain information on this problem.

Berg (1926) in America in 1926 pointed out the difference in behaviour between the *Phytophthora infestans* occurring on potato and that attacking tomato foliage. He found that the fungus isolated from potato did not attack tomato leaves, whereas the fungus taken from tomato foliage attacked tomato leaves severely; both forms of fungus infected tomato fruits, potato leaves and potato tubers. Differences between isolates of the parasite from potato plants and from tomato foliage were also found by Röder (1935) and by Small (1938).

The existence of different races of the late blight fungus affecting potatoes was not mentioned till 1932, when certain hybrid potato varieties in Germany became severely attacked (Schick, 1932). These new potato varieties were called W-varieties, and were probably developed by crossing *Solanum tuberosum* with *S. demissum*. They were cultivated in the field for 7 years without showing any sign of disease, when suddenly in 1932 a heavy epidemic of late blight occurred on them at various places (Müller, 1933 a). According to Schmidt (1933) this sudden appearance of the disease on the resistant hybrids was caused by a new race of the pathogen. This race was named the S-race (Müller, 1933 b) after Streckenthin where it was first discovered. The common late blight race occurring on *S. tuberosum* varieties was called the A-race. The decisive difference between these two forms of the parasite lay in the ability or otherwise of the pathogen to attack the W-varieties. In a large number of places where the W potato varieties were grown, the new

S-race of the pathogen was discovered (SCHMIDT, 1933; KATTERMANN and WENK, 1933). It was suggested either that this S-race was newly formed (SCHMIDT, 1933) or that it had already existed for a long time (MÜLLER, 1934, 1935 a) but that it was only now able, through selection by the cultivated hybrids, to manifest itself. As the A-race could not develop on the W-varieties the S-race could multiply strongly and be recognized.

It is important to note that the appearance of a new form of the late blight fungus on hybrids of *Solanum tuberosum*×*S. demissum* occurred not only in Germany but also in England (O'CONNOR, 1933) and again in Scotland in 1943 (BLACK, 1943). So it seems that wherever new resistant potato hybrids were cultivated, the fungus eventually produced new races able to attack them.

The estimation of the number of these new races is difficult. LEHMANN (1937, 1938), using 50 hybrids as differential hosts, distinguished 8 races. SCHICK and LEHMANN's (1936) remark that the number of races found is dependent on the number of test varieties used is quite logical. MÜLLER (1950) mentions that up to 1944 he had collected 31 different races and recently MASTENBROEK (1951) describes 8. In how far the new races originating in the different countries correspond with one another has never been investigated. As all were determined on different hybrids, little uniformity is to be expected.

Besides the new forms arising as a result of the cultivation of hybrid potatoes, other alterations of the parasite have been described. Influence of the host on the virulence of the late blight fungus was mentioned by BLACK (1950) who wrote: "Specialised strains can be maintained at a constant level of virulence provided the varieties upon which they originally appeared are used as hosts". MÜLLER (1935 b, 1936) mentions changes of virulence of both A- and S-races as a result of their cultivation on semi-resistant potato varieties. This was often accompanied by failure to produce zoospores and poor development of conidia. These changes related only to the intensity of growth of the parasite and not to host selectivity. The changes of virulence illustrate the unstable character of the late blight fungus.

The observations of MÜLLER are not in agreement with those of REDDICK and MILLS (1938, 1939). The latter workers found that *P. infestans* after passage through resistant potato varieties was able to attack a much larger number of potato hybrids than before. The passage through the resistant foliage had changed the original infective capacity of the fungus. This process of building up virulence by passages through resistant plants was again mentioned by REDDICK (1943) in 1943. According to him the virulence increased in all cases. In 1947 he described the procedure as follows: "Given the green leaf of an Empire it (the parasite) dies; but, given a senescent and yellowing leaf of Empire it produces a mild blight and during the process "acquires" the ability to attack a somewhat younger leaf, and, by repeated passage it becomes virulent for the green leaves of the Empire". Another change of virulence was reported by MILLS and PETERSON (1949). Some of their seedlings exhibited signs of infection on the 70th day. Virulent cultures

were obtained by using the organism from some of the largest lesions and by repeating the inoculations on the plant in question.

In all these examples, observations led to the conclusion that the virulence of the late blight fungus could be altered by passages through resistant plants and that the newly acquired characters did not change during further cultivation on the same host variety. On the other hand, the possibility exists that in all these instances a kind of selection has taken place and that the *P. infestans* used was a population of various races. The first mentioned theory obtained support from the work of MILLS (1940), who worked with single zoospore isolations, excluding any possibility of selection from mass populations. MILLS gradually changed the pathogenicity towards tomatoes of the potato race of *Phytophthora infestans* by several passages through tomato foliage. After 7 passages there was no longer any difference between the potato and tomato *Phytophthoras;* both had the same infection potency.

This unstable capacity for infection of *Phytophthora infestans* has been named by REDDICK and MILLS (1938) the *plasticity* of the fungus. It influences to a large extent the possibility of breeding resistant varieties, as well as the occurrence of different races. It is, moreover, a character that may not be limited to the late blight fungus, and is thus worthy of further investigation. The following experiments therefore were set out to examine the alterations in pathogenicity of the late blight fungus acquired by passage through the foliage of tomato and potato hybrids and the subsequent infections on tomato and potato leaves and on potato tubers.

Material and methods

Twelve isolates of the late blight fungus were used. Six originated from foliage of *Solanum tuberosum* varieties grown in different parts of the Netherlands. These were similar to MÜLLER's A-race. Two were isolated from potato W-varieties, four of which were issued in Germany as Aquila, Erika, Frühnudel and Robusta. When these varieties were cultivated in the Netherlands late blight was observed on them; the two isolates from them may therefore correspond with MÜLLER's S-race. They behaved as such by attacking all W-varieties, while the six isolates from *S. tuberosum* varieties did not do so. The four remaining isolates came from new hybrids grown in the field; they were received from C. MASTENBROEK of the Breeding Station of the National Agricultural Cooperative Wholesale Society (Centraal Bureau) at Hoofddorp in the Netherlands. They were not identical, as was found by testing them on the foliage of different potato hybrids.

MASTENBROEK named his isolates[1]) with different letters and distinguished a number of Netherland races of *Phytophthora infestans,* indicating them with the letter (N) and a number. His race (N) 1, isolated from *S. tuberosum* varieties, corresponded with race A from MÜLLER and his race (N) 2, isolated from W-varieties, with MÜLLER's S-race. As some of MASTENBROEK's isolates were used in my experiments and as reciprocally MASTENBROEK received some

[1]) In a publication still in press.

of the fungi from Wageningen, it was thought desirable to use the same nomenclature. The list of isolates used and their origin is as follows:

Table 1

Isolates used

Race	Distinguishing letter	origin	Race	Distinguishing letter	origin
(N) 1	E	Solanum tuberosum	(N) 2	D	W-varieties (hybrid)
(N) 1	P	Solanum tuberosum	(N) 2	F	W-varieties (hybrid)
(N) 1	Q	Solanum tuberosum	(N) 4	G	hybrid C. B. 4389—11
(N) 1	R	Solanum tuberosum	(N) 5	H	hybrid C. B. 4389—69
(N) 1	S	Solanum tuberosum	(N) 6	K	hybrid C. B. 44155— 6
(N) 1	T	Solanum tuberosum	(N) 7	I	hybrid C. B. 4364—37

As MASTENBROEK uses the name *race* for isolates remaining stable with regard to pathogenic characters when cultivated on the same type of plant from which they were isolated or which have same characters as a host plant or on *Solanum tuberosum* varieties, the same word is used here. How far this division of the fungus into races is justified will be discussed later. During the description of the experiments, it will be more comprehensible to retain it provisionally.

MILLS (1940) was able to change a potato race into a tomato one. The latter might be called an *adaptive race*. However, every race isolated may have had its origin from some former change. In future, therefore, when the term race is used, it implies only the form in which the fungus reacts at that moment, independent of its former history. As already mentioned, it remains constant when cultivated on the same kind of plants or on *S. tuberosum* varieties.

The isolates – especially those that were changed during the experiments – were sometimes difficult to classify. In those cases the term *form* is used.

Isolations were made from single zoospores; no conidia were used in order to be sure that the cultures originated from a single nucleus. The *Phytophthora* was kept alive on tubers of *S. tuberosum* varieties inoculated according to the method used in former experiments (DE BRUYN, 1939). The diseased tubers were kept at a temperature of about 10° C. At this temperature the development of the late blight is slow, so frequent reinoculations can be avoided. Conidia and zoospores developed readily from these cultures (CROSIER, 1934). Selection of the potato varieties to be used is of importance, as bacteria develop on some varieties more readily than on others. The rate of growth of the fungus and the development of external mycelium differ also to a large extent on the different varieties. On the tubers of some the fungus advances very slowly, yet it may form abundant aerial mycelium and conidia.

The tubers of the potatoes whose foliage was to be tested were placed during the winter at a suitable temperature and later they were exposed to the light. Under these conditions sturdy green sprouts were developed, remaining in good condition for many months. When plant material was wanted,

single sprouts were removed and planted in soil; roots developed in about two weeks and the new foliage could be used for inoculations. Through this treatment the conditions were approximately the same as for growing plants. By using cuttings the normal transport of the assimilates can be disturbed; the rooted sprouts, however, develop normally.

The inoculations were performed by spraying a zoospore suspension on the foliage. The treated plants were kept in moist chambers – when possible, at a temperature of about 18°–20° C for a fortnight – and were regularly examined. A very susceptible variety of *S. tuberosum* was always used as a control.

Tubers were inoculated with a zoospore suspension at the stem end in a small wound and often kept during the whole experiment at 10° C. After five days they were cut into halves, which were placed in trays in a moist atmosphere. On the cut surfaces of the susceptible tubers mycelium with conidia developed and often discoloration of the tissues occurred. The time required for this varied with the degree of susceptibility of the tuber to the special race of the parasite used. Resistant tubers remained healthy. Tubers of susceptible varieties of *S. tuberosum* were used as controls.

Inoculations on tomatoes

For the experiments on tomatoes 10 different varieties were used of which the variety Marglobe was very susceptible to late blight and Red Cherry the least susceptible. Inoculations were made on seedlings, often in a rather young stage. On resistant plants necrotic spots, not developing further, were frequently observed, while susceptible plants wilted and died. The cotyledons of many varieties were much more readily attacked than the later formed leaves. Under natural conditions they would often drop on the soil and wither, the plants developing further normally.

In June 1946 a preliminary experiment was started with a number of different mixed conidial isolates of the fungus, 11 from potato and one from tomato foliage. All isolates attacked the variety Marglobe, but the isolate from tomato foliage was the only one which infected the other tomato varieties used. In another series of inoculations, however, which was a repetition of the first, some of the tomato plants other than Marglobe showed rather irregular diseased spots. There was no obvious reason why the second series differed from the first. It thus became possible to start making passages through tomato foliage. The results were distinctly in favour of Reddick and Mills' theory, but as the inoculum used was in each case from mixed conidial populations, all future experiments were made with single zoospore cultures.

It was observed that tomato seedlings vary in their susceptibility at different times of the year. Small (1938) reported this seasonal variation to be greater with tomatoes than with potatoes. The plants were found to be less susceptible in summer and very susceptible in November and December. There were also differences in the behaviour of the various isolates with respect to the number of days necessary for symptoms to become visible.

Table 2

Tomato varieties inoculated with isolate F

Date of inoculation	Vahle Leader	Scarlet Topper	Meeldauw vrije	Potentate	Alice Roosevelt	Export Denemark	Red Cherry	Marglobe	Ailsa Craig	Tuckswood
June 7	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Oct. 16	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Nov.10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Inoculated with isolate F after 2 passages through tomatoes									
Oct. 16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Table 2 shows the results of inoculations made with single zoospore isolate F of race 2 from potato in the months of June, October and November. In June only Marglobe was attacked, in October Marglobe and Vahle Leader; in November all 10 varieties of tomatoes became infected. Material from the same single zoospore isolate was also available from another experiment in which it had undergone two passages through tomatoes. It will be seen that when this material was used on October 16, all varieties were attacked. These experiments showed that besides a change in the parasite as a result of passages through a special host, there was also a great influence of environmental conditions on the susceptibility of the host. Foliage developed under different light and temperature conditions responded differently to the fungus. Susceptibility is thus not a fixed character but changes with the constitution of the plant. JOHNSON (1947) had no difficulty in securing a heavy infection on tomatoes with *Phytophthora* isolated from potatoes when the tomatoes had been kept in moist chambers for a certain length of time.

The unstable nature of resistance may thus at times permit the passage of the pathogen through normally resistant plants. These exceptional successful infections on the resistant host enable a beginning to be made in changing the virulence of the pathogen. In the experiments, spores found on the cotyledons were also used. No definite variety was utilized for the passages, when resistant varieties became diseased, which was very irregular, all spores were used as inoculum, even those from Marglobe. Later in the season when conidia were formed on all the varieties and sporulation was abundant, a mixture of the conidia was still used.

On November 21 two of the original potato isolates, R and G, and the same after passage through tomatoes, were placed on ten different tomato varieties (see table 3). All of the seedlings except those of Red Cherry were attacked; however, there were differences in infective capacity of the different isolates, as was shown by the number of days after inoculation before conidia appeared on the different varieties. Thus the time required after inoculation for the development of the conidia can be used to indicate the infective capacity of the different isolates of the parasite. On Red Cherry, only the isolates which had been passed through tomatoes produced spores.

Table 3
Number of days after inoculation before conidia appeared on the leaves

tom.var. / Isolates	Vahle Leader	Scarlet Topper	Meeldauw vrije	Potentate	Alice Roosevelt	Export Denemark	Red Cherry	Marglobe	Ailsa Craig	Tuckswood
R race 1	7	10	9	9	9	9	—	9	8	8
R 3×tom.[1]	7	7	7	7	7	7	10	7	7	7
G race 4	10	13	10	10	10	10	—	9	10	10
G 3×tom.	6	6	6	6	6	6	7	6	7	6

[1]) "3 × tom." means 3 passages through tomato.

In 1946 the five isolates D, F, G, R and T were passed separately through tomato foliage. These were maintained on potato tubers until the spring of 1947. At this time four of these and some new ones, which had also been passed through tomato foliage, were placed on tomatoes and in all cases infections occurred, conidia being formed in three to four days. Those fungi which had not been passed through tomato foliage did not infect the resistant tomato varieties.

In June 1948, inoculations were made with isolates which had been passed through tomato foliage (1) in 1946 and 1947, (2) in 1946 only, (3) in 1947 only, and (4) directly from potatoes or after passage through potato hybrids. The results are seen in table 4 (Marglobe, being susceptible to all isolates, has been omitted).

Table 4
Inoculations of 8 tomato varieties in 1948

Passage through tomato foliage in 1946 and 1947	Passage through tomato foliage in 1946	Passage through tomato foliage in 1947	Directly from potatoes or after passage through potato hybrid
Isolates used: D 7× tom. F 7× tom. R 12× tom. G 11× tom. → all var. severely diseased	T 7× tom. → 5 var. moderately diseased	S 7× tom. K 7× tom. → 7 var. 5 var. moderately diseased	R → 3 var. moderately diseased K 5× tom. 3× Aquila[1]) → all 8 varieties healthy

[1]) K 5 × tom. 3 × Aquila means 5 passages through tomato followed by 3 passages through Aquila.

Although the number of passages was in some cases the same, there was a striking difference between those isolates which had been passed through tomatoes for two successive years and those passed for only one year, in spite of the fact that in 1947 the isolates mentioned in column 1 and 3 seemed equally virulent for all tomato varieties tested. All plants, including the resistant Red Cherry, that were inoculated with the isolates shown in column 1 were heavily attacked, and quickly died. In the other tests Red Cherry always remained healthy, and the leaves of other varieties were not very severely dis-

eased, so that the plants were able to develop further. In 1949 the experiments were repeated with the same results.

Attention must be drawn to the figures in the last column of table 4. The first mentioned isolate R is the same as one that was used in column 1, but for the experiments in column 4 the fungus as originally taken from the potato was used. Although 3 tomato varieties showed necrotic lesions on the leaves the attack was far less severe than on the plants in the column 1 tests; comparison of the results in column 1 and 4 distinctly demonstrates the influence of the passage. The second mentioned isolate K, belonging to race 6, is interesting. It was passed five times through tomatoes, when it acquired the characters of the tomato race, and then through the potato W-variety Aquila, after which it behaved like potato race 2. However, it had now lost its infective capacity

Fig. 1. Right: Seedlings of 5 varieties of tomatoes inoculated with isolate G after 11 passages through tomatoes; left: seedlings inoculated with the same isolate after 8 passages through tomatoes and 4 through Aquila. As a result of this treatment the fungus lost the capacity to infect tomatoes

for tomatoes—that is, it had changed again. Isolated from a potato hybrid the fungus behaved first as a new race 6, through treatment it got the characters of a tomato race, then of potato race 2. This phenomenon is clearly illustrated in Fig. 1. In this case the plants in both boxes were inoculated with isolate G; the plants on the right were inoculated with G after 11 passages through tomatoes, whereas those on the left were inoculated with the same isolate after 8 passages through tomatoes followed by 4 through Aquila. It will be seen that the characters of the tomato race were lost as a result of this treatment. The seedlings in the first instance are quite dead, whereas on the others only necrotic spots are visible.

The plasticity of *Phytophthora infestans* is clearly demonstrated by these experiments. This is shown not only by the gradual change of infective capacity of the potato Phytophthoras towards tomatoes (table 3 and 4), but also by the loss of the newly gained characters after another change of host. When culti-

vated on *Solanum tuberosum* varieties, however, no changes take place and the newly gained characters are retained (Mills, 1940).

Reddick accepts only the augmentation of virulence through passages. In the case of the loss of the infective capacity towards tomatoes following passages through potato hybrids, there is certainly loss of virulence for tomatoes. It is, indeed, perhaps preferable not to speak in general of an augmentation of virulence but only of a change which may be in the direction either of a loss or a gain. It may also be accepted as likely that these changes of potato Phytophthoras into tomato Phytophthoras will take place in nature.

Inoculations on potato foliage

Besides the changes of infection potency for tomatoes, those for different potato hybrids were investigated as well. In the first place the W-varieties, Aquila, Erika, Frühnudel and Robusta, on which Müller's S-race of *Phytophthora infestans* was discovered, were used in the experiments. Hybrids of *S. tuberosum* × *S. demissum* back crossed with *S. tuberosum* were added. Most of these hybrids were obtained from the Breeding Station of the National Agricultural Cooperative Wholesale Society „Centraal Bureau" at Hoofddorp in the Netherlands[1]).

The influence of environmental conditions during growth on the susceptibility of the host, as noted in the tomato experiments, manifested itself also in the potato experiments. In many instances there was considerable fluctuation in the results: e. g. 11 inoculations made on the foliage of hybrid 12 895 with isolate G during 8 different months were successful only four times there being no obvious relation with the time of year at which the inoculations were made. In two experiments, made a fortnight apart, infection occurred only once. This irregularity in the susceptibility of the hosts occurred frequently. It happened not only at different times of the year, but also in some experiments in which 3 sprouts from the same lot of tubers were treated at the same time only one of the sprouts often becoming diseased. Sometimes a single diseased leaf was the only indication that the plants had been treated with a concentrated zoospore suspension.

This variability of attack often made it difficult to state precisely the degree of susceptibility of the hybrids used. In the following description of the results a plant was generally called susceptible whenever a definite spot with conidia was observed, even if this occurred only in a small percentage of the experiments. If a plant became diseased under slightly abnormal conditions, then it was evident that it possessed no absolute resistant characters. The fluctuation in susceptibility also laid emphasis on the fact that whenever possible a considerable number of experiments has to be made before any definite conclusion is reached about the degree of resistance of the plant under test.

However, the capacity of the fungus to attack, even though in slight degree, plants that are generally resistant makes it possible to use them for starting

[1]) Many thanks are due to C. Mastenbroek for the generous supply of the material.

passages of the fungus. In 1947, in the experiments with different isolates on tomato seedlings, the potato variety Bintje and the W-variety Aquila were used as controls. In four tests the variety Aquila was attacked normally by the two isolates of race 2 only, when suddenly in the 5th and 6th series 5 of the 6 other isolates attacked the Aquila, viz. 3 isolates of race 1 and race 4 and 6. In the 7th series only one of them did so; the others were no longer able to infect this W-variety.

As 5 different isolates, unlike in their behaviour, attacked the resistant variety at the same time, it seems likely that the foliage of the Aquila was in a specially favorable condition for attack by the fungus, rather than that all 5 isolates of the parasite changed suddenly at the same time and in the same direction. This receptive condition of Aquila must have been due to the special environmental conditions prevailing at the time. Experiments to identify these conditions have so far not been successful.

It was possible by use of the conidia developing on the blighted plants to pass these isolates through the W-varieties. Many of these isolates had already passed tomato foliage and thus had more or less infection capacity for tomatoes.

Also, in further experiments, leaves of hybrids 12 895 and 13 018 were sometimes attacked. When this happened, some further passages of the isolates concerned were made through the same hybrids. The original isolates could thus eventually be divided into 5 groups:

the original 12 isolates
7 of these with passages through tomatoes
5 of these with final passages through Aquila and other W-varieties
4 of these with final passages through hybrid 12 895
4 of these with final passages through hybrid 13 018

A list showing the history of the modified isolates is given in table 5. It was found that the infective capacity of the modified isolates depended always on the last passages, whatever their former race or treatment had been. Thus, two isolates of race 1 having passed Aquila or other W-varieties behaved henceforward as if they were race 2 and were able to infect the W-varieties Aquila, Erika, Frühnudel and Robusta, which they did not previously do.

Hybrid 12 895 seemed to have the same resistant qualities as the W-varieties, since all isolates with passages through 12 895 had the characters of race 2. Hybrid 13 018, on the other hand, appeared to be different, since the isolates that passed it were not quite the same either as those of race 1 or those of race 2, since they attacked some hybrids which race 1 and 2 were not able to infect.

Isolate T ist represented in all 5 groups. Beginning as race 1, in groups 3 and 4 it acquired the characters of race 2; in group 2 it behaved as a tomato race; and in group 5 it had still other characteristics—those of an unnamed new race. All these forms, each with a different infective capacity, originated from a single zoospore. Isolate T thus underwent very complicated transformations.

The modified isolates were kept in stock on tubers of *S. tuberosum* varieties. When kept alive in this way on the common potato varieties they remained

Table 5
List showing the history of the different passages of the isolates

Race	Isolate	Passages	Designation in text
1	E	original	E
1	P	,,	P
1	Q	,,	Q
1	R	,,	R
1	S	,,	S
1	T	,,	T
2	D	,,	D
2	F	,,	F
4	G	,,	G
5	H	,,	H
6	K	,,	K
7	I	,,	I
1	R	12× tom.	R tom.
1	S	7× tom.	S tom.
1	T	7× tom.	T tom.
2	D	7× tom.	D tom.
2	F	10× tom.	F tom.
4	G	11× tom.	G tom.
6	K	7× tom.	K tom.
1	S	4× tom., 4× Aquila or other W-var.	S Aquila
1	T	4× Aquila or other W-var.	T Aquila
4	G	8× tom., 4× Aquila or other W-var.	G Aquila
5	H	2× Aquila or other W-var.	H Aquila
6	K	5× tom., 3× Aquila or other W-var.	K Aquila
1	R	6× tom., 3× Aquila, 3× 12895	R 12895
1	T	4× Aquila, 3× 12895	T 12895
4	G	8× tom., 4× Aquila, 2× 12895	G 12895
6	K	5× tom., 3× Aquila, 3× 12895	K 12895
1	T	4× Aquila, 2× 12895, 6× 13018	T 13018
4	G	5× 13018	G 13018
6	K	9× 13018	K 13018
7	I	7× 13018	I 13018

constant, but as soon as they were cultivated on the foliage of special hybrids or of tomatoes under conditions allowing passages through these normally resistant plants their characters changed without regard to what their former history had been.

These facts were confirmed by the inoculation of 40 potato hybrids with a number of the 32 Phytophthora forms. Only 9 hybrids did not become infected; 5 of these were treated with a few forms of the parasite and then only a few times. The other 4 were inoculated at least 4 times with about 20 forms. The percentage of these potato hybrids possessing apparent immunity is thus rather small. The rest of the hybrids became distinctly infected at least once. Five were infected by all forms of the fungus, while 26 were attacked by one or other of the special races or modified isolates.

According to MASTENBROEK his race 6, isolate K does not infect the W-varieties. In a few of our preliminary inoculations it behaved in this way,

but after the winter of 1947/48 it did attack the foliage of the W-varieties. At first it was thought that this was due to the unstable reaction of the host plants. Later, however, its behaviour was so constant that it seemed probable that a change had taken place either spontaneously or as a result of some technical error which is always possible however carefully the work is done. The induced changes of K were made before that date. It was therefore thought advisable to omit results obtained with isolate K in later experiments.

As an example, the results of inoculations on 3 hybrids are given in table 6. Hybrid 12 895 was attacked by the 2 original race 2 isolates D and F, by races 4, 5 and 7 and by all fungi which had passed through the Aquila variety or through 12 895. It was not attacked by various isolates of race 1 (E, P, Q, R, S, T) or by isolates passed through 13 018, with the exception of T-13 018. The change in the parasite is demonstrated by the fact that the R, S and T isolates of race 1 infect it after passage through Aquila or 12 895, whereas the G and I isolates (races 4 and 7) lose this capacity after passage through 13 018. The behaviour of H-Aq. is one of those exceptions not easily explained.

Hybrids 12 897 and 13 018 provided examples of what might be called a new type of reaction, since they were susceptible neither to race 1 nor to race 2 with the exception that 12 897 was infected by isolate D of race 2. They were attacked only by races 4, 5 and 7 and by the 4 isolates that had passed 13 018. The behaviour of the 3 hybrids of table 6 again demonstrated clearly that the origin of the fungus was of little importance, since the infective capacity was determined by the potato hybrids through which the fungus had last been passed.

Table 6

Susceptibility of the foliage of 3 hybrids to 11 different isolates and to their changed forms

	12895	12897	13018
Race 1 E	—	—	—
P	—	—	—
Q	—	—	—
R	—	—	—
S	—	—	—
T	—	—	—
Race 2 D	+	+	—
F	+	—	—
Race 4 G	+	+	+
Race 5 H	+	+	+
Race 7 I	+	+	+
S Aq.	+	—	—
T Aq.	+	—	—
G Aq.	+	—	—
H Aq.	—	—	—
K Aq.	+	—	—
R 12895	+	—	—
T 12895	+	—	—
G 12895	+	—	—
K 12895	+	—	—
T 13018	+	+	+
G 13018	—	+	+
K 13018	—	+	+
I 13018	—	+	+

Considering the results, shown in table 6, it is evident that besides the races mentioned, still another having the characters of the one passed through 13 018 might be distinguished. However, because of the plastic character of *P. infestans*, which is again demonstrated by these experiments, it seems inadvisable continually to name new races.

The experiments on potato foliage gave results similar to those obtained on tomatoes. In the same way that potato races 1 and 2 could be changed into a tomato race, it now became evident that potato race 1 could be transformed into potato race 2, and both races could acquire still other characters. The changes therefore do not involve only an increase of virulence but differences in host range which might correspond either with an increase or decrease of virulence.

Inoculations on potato tubers

Although it has been shown that passages through potato foliage can change the infection capacity of the parasite, it is not known whether passages through tubers will have the same effect. Tubers were, however, used for testing the results of the experiments. They were easier to work with, and the numbers used for each experiment could be much larger. They also gave very striking results, for the changes of the late blight fungus induced by its passages through foliage could be demonstrated by tuber inoculations. Tubers, therefore, were found to be well suited for the investigations; on the whole they were more susceptible than the leaves.

The correlation between the susceptibility of the tubers and that of the foliage has often been investigated. According to MÜLLER (1935 a) his A-race was able to infect the tubers of the W-varieties. LEHMANN (1938), using 8 races of Phythophthora and 50 hybrids, found a 75% correlation between foliage and tuber susceptibility. BONDE, STEVENSON and CLARK (1940) found a higher correlation in certain progenies than in others. They believed that resistance in the foliage and that in the tubers are due to different genetic factors.

REDDICK (1943) mentions that immunity of aerial parts does not necessarily extend to the tubers. This was confirmed in my experiments. Tubers of all hybrids used were infected by one or other race of the fungus. The tubers of the 9 hybrids with foliage immunity, were all susceptible to one or other form of the pathogen. There was no distinct correlation between the affinity of the fungus for the foliage and the susceptibility of the tubers. Some tubers were attacked by all forms of the parasite, whereas others were attacked only by those with race 2 characters. The apparent immunity of the foliage was never found in the tubers.

The percentage of successful infections obtained with pathogenic forms varied with the different

Table 7

Percentage diseased tubers of hybrids

Hybrids	crop 1948	crop 1949
2405	93	93
2482	100	98
2500	99	99
12895	97	95
2218	93	78
4065	93	66
2235	73	32
12963	54	12

hybrids. In some hybrids about 90—100 % of the tubers became diseased whereas in others lower percentages were found. Low percentage infection may be correlated with low susceptibility.

In table 7 are given the percentages of blighted tubers of 8 hybrids from plants grown in 1948 and 1949, after inoculation with the pathogenic forms to which they were susceptible. In 4 hybrids the percentage was similar in both years and nearly 100 %; the other 4 showed big differences between the two years and the differences increased as the percentage of successful inoculations decreased. This result may have been due to the influence of environmental conditions on susceptibility to *Phytophthora infestans*. The summer of 1948 was very wet, while that of 1949 was dry. These contrasting weather conditions may have had a differential effect on the composition of the tubers in the two years, thus causing difference in susceptibility which became especially marked in those cases in which susceptibility was already slight.

The difference between foliage and tuber susceptibility was clearly demonstrated by the 3 hybrids mentioned in table 6. The leaves of these hybrids provided good material for distinguishing the varying infective capacity of the

Table 8

Susceptibility of the tubers of 12 hybrids

	137 A	221	467	Bl. 655	2482	4065	2218	2405	12959	2235	2244	334
Race 1 E	–	–	–	–	—	1 –	– –	– –	–	–	–	–
P	–	–	–	–	– –	– –	– –	– –	–	–	–	–
Q	–	–	–	–	– –	– –	– –	–	–	–	–	–
R	–	–	–	–	– –	1 –	– –	– –	–	–	–	1
S	–	–	–	–	– –	– –	– –	– –	–	1	–	–
T	–	–	–	–	– –	– –	– –	– –	–	1	–	1
Race 2 D	3	3	2	2	2 3	3 2	2 1	1 2	1	1	–	1
F	3	3	3	2	2 2	3 2	1 1	1 1	1	1	–	–
Race 4 G	–	–	–	–	– –	1 1	– –	– –	–	1	2	1
Race 5 H	1	–	–	–	– –	– –	– –	– –	1	2	1	–
Race 7 I	–	–	–	–	– –	– –	– –	– –	–	1	1	2
S Aq.	3	3	2	3	2 3	2 1	2 1	1 1	–	–	–	–
T Aq.	3	3	3	3	2 2	2 2	2 1	1 1	1	–	–	–
G Aq.	3	3	3	3	2 3	3 1	2 2	1 1	1	–	–	–
H Aq.	3	3	3	3	2 3	3 1	2 2	1 2	2	–	–	–
K Aq.	3	3	3	3	2 3	2 1	2 1	1 2	1	–	–	–
R 12895	3	3	3	2	2 3	3 2	2 2	2 2	1	–	–	1
T 12895	3	3	3	3	2 3	3 2	2 1	1 2	1	–	1	–
G 12895	3	3	2	3	2 3	3 2	2 1	1 1	1	–	–	–
K 12895	3	2	3	2	2 3	3 2	2 2	1 1	1	–	–	–
T 13018	1	–	–	–	– –	– –	– –	– –	1	1	1	–
G 13018	–	–	–	1	– –	– –	– –	– –	–	1	2	1
K 13018	1	–	–	–	– –	– –	– –	– –	1	2	–	1
I 13018	1	–	–	–	– –	– –	– –	– –	1	2	–	–
R tom.	–	–	–	–	– –	– –	– –	– –	–	1	–	1
S tom.	1	–	–	–	– –	– –	– –	– –	–	1	–	–
T tom.	–	–	–	–	– –	– –	– –	– –	–	–	–	1
D tom.	–	–	–	–	– –	– –	– –	– –	–	1	1	1
F tom.	–	–	–	–	– –	– –	– –	– –	1	–	–	–
G tom.	–	–	–	–	– –	– –	– –	– –	–	–	1	1
K tom.	–	–	–	–	– –	– –	– –	– –	–	1	1	–

— no infection, 1 slight infection, 2 moderate infection, 3 severe infection.

different races of the parasite and the changes in their characters following various passages. The tubers of the 3 hybrids, however, were attacked by all races of the fungus; in other words, they behaved as normal *S. tuberosum* varieties. The tubers of other hybrids, on the other hand, furnished examples of susceptibility to special races only, and to certain changed forms. The results of inoculations of the tubers of 12 hybrids are given in table 8.

In most cases 5 tubers of each hybrid were inoculated, but of 4 hybrids the number of tubers available was insufficient and 3 or 4, only were taken. The tubers of 4 hybrids were tested in 2 successive years. The ratings were given according to the number of tubers diseased, to the times required before the attack became visible and to the severity of the attack.

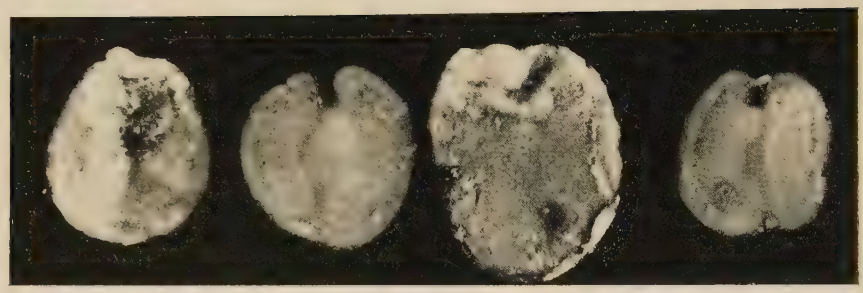
The tubers of the first 8 hybrids were in general infected by race 2 and by all the isolates that had passed Aquila and the other W-varieties and hybrid 12 895. The exceptions were few and all had rating 1, showing that the attack was very slight. The tubers of these 8 hybrids formed a declining series in susceptibility, the first being most susceptible, and the last least so; also, all were infected by the same forms. In contradistinction to these 8, the last 3 hybrids were not attacked by race 2, or by the isolates that had passed Aquila or 12 895 or only very slightly; they were more susceptible to races 4, 5 and 7 and to the isolates that had passed 13 018. Hybrid 12 959 was not affected by race 1, but was attacked to a slight degree by all other forms, thus demonstrating still another kind of susceptibility.

The changes induced in the different isolates and the respective gains or losses involved are enumerated in table 9. It is based on the results recorded in tables 6 and 8 and on others already mentioned.

Table 9

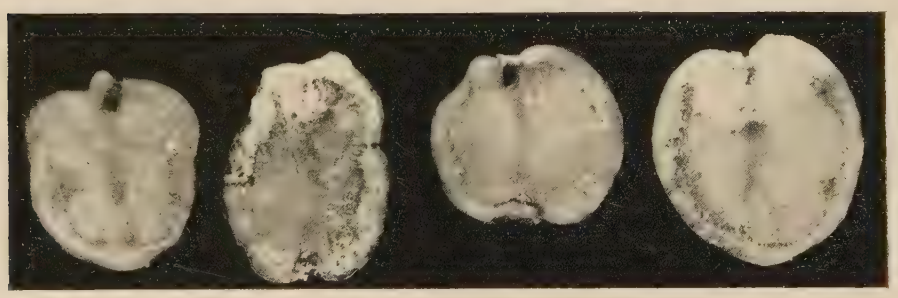
Changes induced in different isolates

Race	Changed into	Examples	Gain	Loss
Race 1 (S. tub.)	Race 2	S (tom.) Aq.	Characters race 2	Characters race tom.
		T Aq.	Characters race 2	
		R (tom. Aq.) 12895	Characters race 2	Characters race tom.
		T 12895	Characters race 2	
	Race tom.	R tom.	Characters race tom.	
		S tom.	Characters race tom.	
		T tom.	Characters race tom.	
	Form 13018	T (Aq. 12895)13018	Characters 13018	Characters race 2
Race 2	Race tom.	D tom.	Characters race tom.	Characters race 2
		F tom.	Characters race tom.	Characters race 2
Race 4	Race tom.	G tom.	Characters race tom.	
	Race 2	G (tom.) Aq.	Characters race 2	Characters race tom.
		G (tom. Aq.) 12895	Characters race 2	Characters race tom.
	Form 13018	G 13018	Characters 13018	
Race 5	Race 2	H. Aq	Characters race 2	
Race 6	Race tom.	K tom.	Characters race tom.	
	Race 2	K (tom.) Aq.		Characters race tom.
		K (tom. Aq.) 12895		Characters race tom.
	Form 13018	K 13018	Characters 13018	
Race 7	Form 13018	I 13018	Characters 13018	



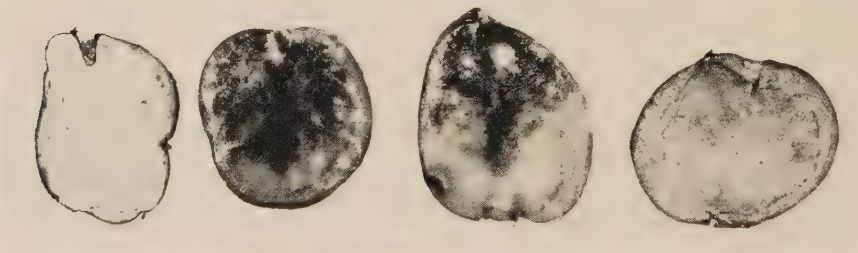
D D tom. F F tom.

Fig. 2. Tubers of the potato W-variety Frühnudel, inoculated with race 2, isolates D and F, from potatoes and with the same isolates after passage through tomatoes. The tubers inoculated with potato race 2 became infected, as is evident from the aerial mycelium; after passage through tomatoes both isolates lost their infective capacity towards W-varieties



S S. Aq. H H Aq.

Fig. 3. Tubers of the potato W-variety Frühnudel, inoculated with race 1, isolates S and race 5 and with the same isolates after passage through the W-variety Aquila. The original isolates did not infect the tubers, but after passages through Aquila both became infective to W-tubers, as indicated by the aerial mycelium



T T Aq. T 128 95 T 130 18

Fig. 4. Tubers of the potato W-variety Aquila inoculated with race 1, isolate T and with the same after passage through Aquila, hybrid 128 95 and hybrid 130 18. Tubers inoculated with T and T 130 18 remained healthy, whereas those inoculated with T Aq. and T 128 95 became infected, as is evident from the aerial mycelium

The gain or loss of the characters of race 2 were often tested on the W-varieties. The loss of the characters of the tomato race from such changed forms as S (tom.) Aq., R (tom. Aq.) 12 895, G (tom.) Aq., G (tom. Aq.) 12 895, K (tom.) Aq. and K (tom. Aq.) 12 895 was tested by inoculation on tomato plants. Loss of other characters e. g. those belonging especially to races 4, 5, 6 or 7 or to 13 018 was quite possible, but no investigations were made to settle this question.

Figures 2, 3 and 4 show some of these changes clearly. Fig. 2 shows late blight development on the tuber of Frühnudel, a W-variety, after treatment with the 2 isolates of race 2, both isolates lost the infective capacity of race 2 after passage through tomatoes. On the other hand it can be seen in fig. 3 that races 1 and 5 do not attack the Frühnudel, but that after passage through Aquila both have acquired the characters of race 2. Fig. 4 shows the W-variety Aquila and its reaction to 4 forms of isolate T, viz. the original one (race 1), and the same after passages through Aquila and 12 895 (race 2) and through 13 018.

Although the reactions of the tubers to the special forms of the late blight fungus do not correspond with those of the foliage of the same plants, the changes in the infective capacity of the parasite are perhaps demonstrated by the diseased tubers still better than by the leaves of the potato hybrids.

Discussion

The results of the experiments on tomatoes and on potato foliage and tubers have all emphasized the plastic character of *Phytophthora infestans*. This fungus does not have a stable infective capacity, but becomes altered by passage through certain hosts—that is provided these hosts have varying susceptibility to the fungus, being in general resistant, but not always so under all conditions.

The occasional susceptibility of the resistant host, which is necessary for eventual change of the parasite, can be induced by changes in the environmental conditions. In artificial media, *P. infestans* is particular about the nutritive composition of the medium, and it may be that some alteration in the composition of a resistant plant brought about by a change in external conditions may make possible the growth of the fungus on it.

This passage through the resistant plant modifies the fungus. After further similar passages the alteration increases; the whole process is accomplished gradually. These changes are not always in one direction, certain characters can be acquired, but can also be lost. Through suitable treatment lost characters can be regained.

The modification of the fungus whereby it is enabled to infect plants that were formerly resistant, might be called adaptation. In other words the parasite adapts itself to a new host. New characters are acquired favourable to the parasitic action of the fungus. The development of new adapted races of the fungus depends upon the quantity of different resistant hosts available and on these becoming susceptible under slightly differing conditions. In the case

of *P. infestans*, it were the newly cultivated potato hybrids which were responsible for the appearance of the adapted races of the parasite. It is likely that processes such as this play an important part in nature.

Other examples of adaptation are mentioned in the literature. MULLER (1927) described a single spore isolate of *Gloeosporium fructigenum* which attacked wounded apples and tomatoes, but lost this infective capacity after passage through *Phaseolus vulgaris*. It became a more specialized Phaseolus parasite. According to him the characters of *Gloeosporium fructigenum* are very variable and the fungus is able to adapt itself to various hosts. Actinomycetes causing potato scab can lose their infective capacity in pure culture, but regain it after renewed growth on living potato tubers (DE BRUYN, 1939). In both these instances the changed fungi originated from single spores and both furnish examples of adaptation.

Probably this adaptation occurs in other parasitic fungi. How the process is really accomplished is not solved by the experiments. The gradual and reversible character of the changes makes it rather difficult to ascribe the phenomenon to nucleus alteration. Still, such nuclear change may be the correct explanation. As the reproduction of the fungus in the experiments has been completely asexual, this cannot be proved definitely and all interpretations of the phenomenon can only be of a theoretical nature.

The division of the various forms of *Phytophthora infestans* into races is a difficult problem, due to the plasticity of the fungus. It is becoming still more complicated by the fact that different authors have used the same nomenclature for races that are obviously different. BLACK (1943, 1950) named his races A, B and C. A of BLACK, however, is not identical with race A of MÜLLER. The division used is based upon the behaviour of the pathogen towards potato hybrids or other Solanum species. The plasticity of the parasite causes the determination of the races to be dependent on the host plants on which they have recently developed. Although the fungus keeps stable when it is kept in culture on its original host or on *Solanum tuberosum* varieties, it is doubtful whether a division into races in these conditions is very real. For working purposes it may be desirable to make such a division but it must always be realized that another one is also possible. The limits of plasticity might be a character that could be used in distinguishing different races. However, no specific test plants to determine these limits exist and in addition they may overlap, making it very difficult to separate one from the other. The question of the division into races of the late blight fungus thus remains an unsolved problem. The fact can be stated, however, that this parasite possesses a great pathogenic differentiation.

REDDICK (1938) mentioned that the loss of resistance to blight of the potato variety Champion after many years of healthy growth might have been due to a change in the parasite rather than to a change in the potato. The same has probably happened with the variety Magnum bonum, whose susceptibility also increased after many years of cultivation. These might be examples of the influence of the phenomenon of natural variation, already described. DE BRUYN (1947) noted that Phytophthora isolates from certain varieties of *S. tuberosum*

were more pathogenic to these varieties than to others. This fact can also be explained by change of the fungus.

For the breeder of blight-resistant potatoes the plasticity of the fungus poses a difficult problem. It has already been noticed that new races of the parasite are observed only where hybrids are cultivated. This means that growing hybrids favours the development of new races of *P. infestans*, and consequently, the possibility of the disease spreading in supposedly resistant new varieties, as happened in Germany in 1932. The formation of new races of the parasite will have no appreciable influence on the general occurrence of late blight on common *S. tuberosum* varieties in the field, for no difference in severity of the disease has been observed between the attack of the original and new races of the parasite.

It is not to be excluded that real immune hybrids will eventually be produced. At Wageningen all seedlings from potato crosses were sprayed with a mixture of all original and changed forms of the *P. infestans*. The majority of the seedlings died, but in some cases a proportion as high as 20 %, even, remained alive showing no spots whatever. It may be that these plants have the characters of real immunity; only the future can give answer to this question.

The work on the breeding of blight immune potatoes must be continued, notwithstanding the above mentioned facts. Late blight is still one of the greatest enemies of the potato crop. Blight immune potato varieties are the best solution to this evil, better than all spraying methods. Breeders and phytopathologists will both have to do their part for the best results can be obtained only by profound knowledge of the host and of its parasite.

Summary

The cultivation of new hybrid potato varieties has led to the appearance of new races of *Phytophthora infestans*.

Experiments have proved that this fungus has a great plasticity. Potato race 1 (Mastenbroek) could be changed into race 2 and both these races as well as 2 others could be changed into the tomato race. The tomato race could also be changed into potato race 2.

As a result of passages of the fungus through tomatoes and through 3 different potato hybrids, 5 different groups of races were made. All isolates of one group behaved alike independent of their origin. When succeeding passages were made through different resistant host plants e. g. tomatoes and various potato hybrids, the last passages determined the infective capacity of the parasite. The original isolates in all cases started from single zoospores.

New races could also be distinguished. The results of the experiments make it difficult to maintain that the present division into races has any permanent basis. Races may also be characterized by different limits of plasticity, but so far no test plants to determine these are available.

The changes occur gradually as a result of passages through resistant plants. They are possible only when the resistant plants become occasionally

susceptible. This may occur because of altered environmental conditions. The results may be a difference in host range, with either a loss or gain of special pathogenic characters.

No correlation could be found between the foliage and tuber reactions of potatoes to the special changed forms of the late blight. The changes in the infective capacity of the fungus were demonstrated by foliage and tuber inoculations. On the whole the tubers were more susceptible than the leaves.

Wageningen, April 1951.

I am much indebted to M. C. RICHARDS and to G. G. SAMUEL for their kind help with the English.

Literature

BERG, A., Tomato late blight and its relation to late blight of potato. West Virginia Agr. Exp. Sta. Bull. 205, 31 p., 1926.

BLACK, W., Inheritance of resistance to two strains of blight (*Phytophthora infestans* de Bary) in potatoes. Trans. Roy. Soc. Edinburgh **61**, 137—147, 1943.

— —, Inheritance to blight (*Phytophthora infestans*) in potatoes: strain C and its relationships. Proc. Roy. Soc. Edinburgh B. **64**, 216—228, 1950.

BONDE, R., STEVENSON, F. J. and CLARK, C. F., Resistance of certain potato varieties and seedling progenies to late blight in the tubers. Phytopathology **30**, 733—748, 1940.

BRUYN, H. L. G. DE, Onderzoekingen over enkele Actinomyceten, welke aardappelschurft verwekken. Tijdschr. Plantenziekten **45**, 133—156, 1939.

— —, Methode voor het vaststellen van de vatbaarheidsgraad van aardappelknollen voor de aardappelziekte. Tijdschr. Plantenziekten **49**, 77—98, 1943.

— —, Het rassenprobleem bij *Phytophthora infestans*. Vakbl. Biologen **27**, 147—150, 1947.

CROSIER, W., Studies in the biology of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Cornell Univ. Agr. Exp. St. Mem. **155**, 40 p., 1934.

JOHNSON, J., Water-congestion and fungus parasitism. Phytopathology, **37**, 403—417, 1947.

KATTERMANN, G. und WENK, H., Ein neuer Phytophthorabiotyp auch in Bayern? Der Züchter **5**, 129—132, 1933.

LEHMANN, H., Das heutige Ausgangsmaterial für die Züchtung Phytophthora widerstandsfähiger Kartoffeln. Der Züchter **9**, 29—35, 1937.

— —, Ein weiterer Beitrag zum Problem der physiologischen Spezialisierung von *Phytophthora infestans* de Bary, dem Erreger der Kartoffelkrautfäule. Phytopath. Zeitschr. **11**, 121—154, 1938.

MASTENBROEK, C., Over de differentiatie van *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en de vererving van de resistentie van *Solanum demissum* L. Diss. Wageningen. In press.

MILLS, W. R., *Phytophthora infestans* on tomato. Phytopathology **30**, 830—839, 1940.

— — and PETERSON, L. C., Potato blight investigations. Am. Potato Journ. **26**, 98, 1949.

MULLER, H. R. A., Onderzoekingen over *Colletotrichum Lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. en *Gloeosporium fructigenum* Berk. *forma hollandica* nova forma. Diss. Wageningen, 1927.

MÜLLER, K. O., Über die Biotypen von *Phytophthora infestans* und ihre geographische Verbreitung in Deutschland. Nachrichtenbl. deutsch. Pflanzenschutzdienstes **13**, 91—92, 1933.

— —, Bemerkungen zur Frage der „biologischen Spezialisierung" von *Phytophthora infestans*. Angew. Bot. **15**, 84—96, 1933.

— —, Biotypenfrage bei *Phytophthora infestans*. Ber. Deutsch. Bot. Ges. **52**, 373—377, 1934.

— —, Über den augenblicklichen Stand unserer Kenntnisse zur biologischen Spezialisierung des Krautfäuleerregers der Kartoffel (*Phytophthora infestans*). Der Züchter **7**, 34—46, 1935.

— —, Die Variabilität der Virulenz und der biologischen Spezialisation bei *Phytophthora infestans*. Proc. 6th internat. Congr. Amsterdam 188—190, 1935.

— —, Die Variabilität der Virulenz und der biologischen Spezialisation bei dem Erreger der Kartoffelkrautfäule, *Phytophthora infestans*. Die Naturwissenschaften **24**, 552—557, 1936.

— —, Affinity and reactivity of Angiosperms to *Phytophthora infestans*. Nature **166**, 392, 1950.

C'Connor, C., Potato breeding and resistance to blight. The Gard. Chron. **93**, 104, 1933.

Reddick, D., Development of blight immune varieties. Am. Potato Journ. **20**, 118—126, 1943.

— —, Breeding for blight resistance. Am. Potato Journ. **24**, 226—227, 1947.

— — and Mills, W., Building up virulence in *Phytophthora infestans*. Am. Potato Journ. **15**, 29—34, 1938.

— — — —, Blight immune versus blight resistant potatoes. Am. Potato Journ. **16**, 220—224, 1939.

Röder, K., Untersuchungen über die Phytophthorakrankheit (*Phytophthora infestans*) der Tomate. Phytopath. Zeitschr. **8**, 589—614, 1935.

Schmidt, E., Unsere Erfahrungen bei der Züchtung phytophthoraresistenter Kartoffeln. Der Züchter **5**, 173—179, 1933.

Schick, R., Über das Verhalten von *Solanum demissum, Solanum tuberosum* und ihren Bastarden gegenüber verschiedenen Herkünften von *Phytophthora infestans*. Der Züchter **4**, 233—237, 1932.

— — und Lehmann, H., Zur physiologischen Spezialisierung von *Phytophthora infestans* de Bary. Der Züchter **8**, 34—46, 1936.

Small, T., The relation between potato blight and tomato blight. Ann. Appl. Biol. **25**, 271—275, 1938.

Kurze Mitteilungen

Aus der Biologischen Bundesanstalt, Institut für Bakteriologie und Serologie, Braunschweig-Gliesmarode

Fortgeführte Untersuchungen über die Beziehung zwischen Infektionserfolg und Wetterverlauf bei der Kartoffel-Naßfäule

Vorläufige Mitteilung

Von

H. Bortels

Mit einer Abbildung

Über die Abhängigkeit der Virulenz pathogener Bakterien und des Infektionserfolges vom Wetterverlauf wurde schon verschiedentlich berichtet (1, 2, 3). Die entsprechenden Versuche haben immer wieder gezeigt, daß die Krankheit an Umfang und Schwere zunimmt, wenn die Erreger bei steigendem Druck vorgezüchtet und in den zu infizierenden Wirtsorganismus übertragen werden. Umgekehrt war der Infektionserfolg gering oder blieb völlig aus, wenn bei fallendem Druck geimpft wurde.

Da als Ursache für die wetterbezogenen Schwankungen im Verhalten der Organismen und somit auch im Seuchengeschehen Strahlung festgestellt werden konnte (4), wird es nicht gleichgültig sein, ob die Erreger und Wirtsorganismen unter einem wirksamen Strahlenschutz gehalten werden oder nicht. Das ist im Hinblick auf die unterschiedlichen örtlichen Verhältnisse verschiedener Laboratorien bei meteorobiologischen Untersuchungen stets zu beachten. Die „Wetterstrahlung" setzt sich aus weicheren, den Tiefdruckgebieten zugeordneten „T-Strahlen" und härteren, den Hochdruckgebieten zugeordneten „H-Strahlen" zusammen, von denen sich die ersteren teilweise sehr leicht abschirmen lassen.

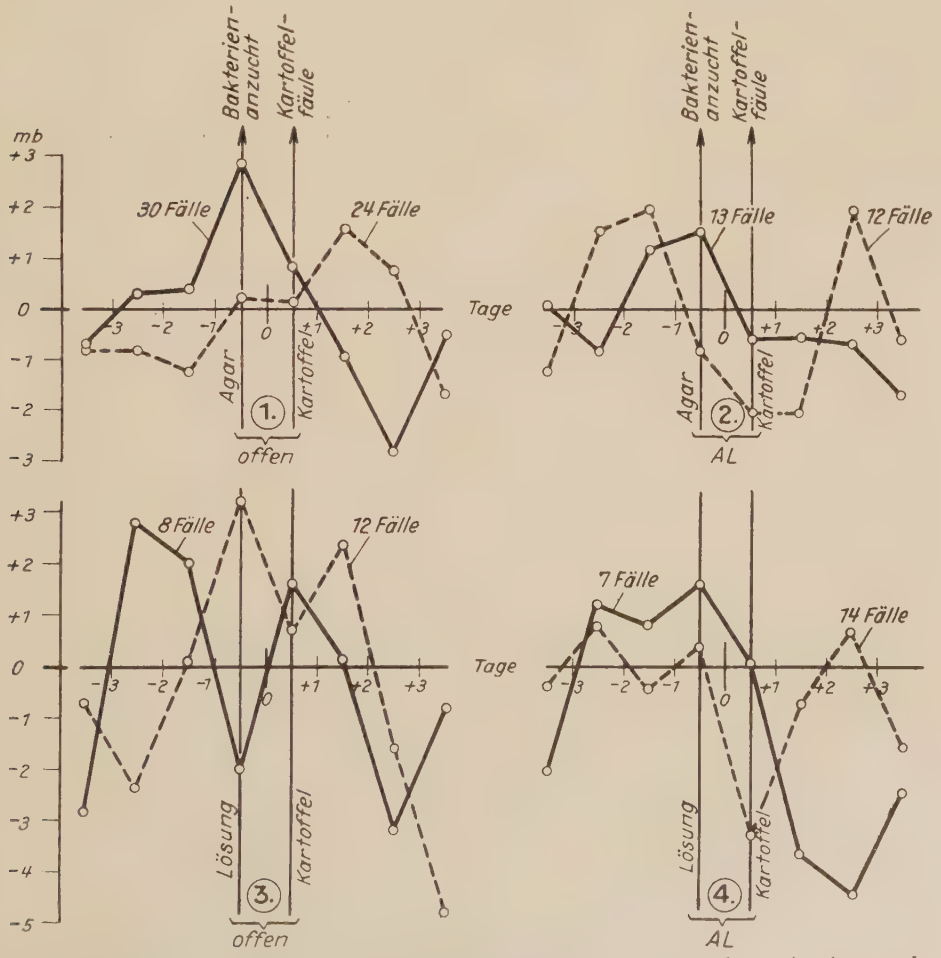
Bezüglich ihrer Reaktion auf die „Wetterstrahlung" verhalten sich nun aerobe und anaerobe Mikroorganismen grundverschieden. Während die aerobe Atmung und von dieser stark abhängige biologische Prozesse durch „H-Strahlung" gefördert werden, verlaufen anaerobe Gärungen und Reduktionen intensiver bei „T-Strahlung". Die Auffindung der oben erwähnten Beziehung zwischen Infektionserfolg und Wetterverlauf wird also dem Umstand zu verdanken sein, daß bisher nur aerobe pathogene Bakterien untersucht wurden.

Schließlich dürfte es auch nicht von der Hand zu weisen sein, daß die im wesentlichen von der Sonne kommende „Wetterstrahlung" nicht nur mit dem Wetterverlauf, sondern schon primär durch die Aktivitätsperioden der Sonne starken Veränderungen unterworfen ist. Sie müssen sich gleichfalls epidemiologisch auswirken.

Deshalb wurden die 1941/42 vor einem Sonnenfleckenminimum (1944) durchgeführten Versuche in den Jahren 1949/51 nach dem besonders starken Maximum von 1947 in erweitertem Umfange wieder aufgenommen. Über die dabei erzielten Ergebnisse bezüglich der Tabak-Wildfeuerkrankheit wurde schon summarisch kurz

berichtet (3). Hier sollen nun die Versuchsergebnisse bezüglich der Kartoffel-Naßfäule, ebenso kurz zusammengefaßt, mitgeteilt werden. Während es sich bei dem Erreger der Tabakkrankheit um ein streng aerobes Bakterium handelt, kann der Erreger der Kartoffel-Naßfäule und -Schwarzbeinigkeit als weniger aerob bezeichnet werden. Denn er dürfte als Fäuleerreger in der Kartoffelknolle nicht sehr viel Sauerstoff zur Verfügung haben und wächst zudem sehr gut in Nährlösung, die gleichmäßig getrübt wird, auch unter flüssigem Paraffin.

In ähnlicher Weise wie früher, aber im hölzernen, mit Glaswolle isolierten Brutraum der Institutsbaracke wurden täglich vom 9. 11. 1950 bis 1. 6. 1951 bei 27 ° C je 2 Parallelkulturen auf Bouillonagar 24 Std. vorgezüchtet und dann bis zu einer stets gleich starken Trübung in Leitungswasser aufgeschwemmt. Hiermit wurden die 4 mm breiten Bohrungen je zweier Knollen der Sorte „Direktor Johanssen", Ernte 1950, angefüllt. Die Bohrzylinder wurden dann wieder eingesetzt und die so infizierten Knollen in feuchter Kammer 24 Std. bebrütet. Ab 25. 2. wurden die Bakterien zusätzlich noch in Nährlösung, also weniger aerob, vorgezüchtet und außerdem noch während dieser beiden verschiedenen Anzuchten und



Interdiurne Luftdruckänderungen um die Stichtage der Bakterienanzucht und der darauf folgenden Kartoffel-Naßfäule bei Zunahme (o——o) und Abnahme (o————o) der Krankheit unter 4 verschiedenen Bedingungen

der Fortzüchtung in den Kartoffelknollen unter 0,07 mm Aluminium (Al) gehalten, das gewisse Teile der „T-Strahlung" abschirmt. Als Maß für die Stärke der Fäulnis diente der mittlere ⌀ des an 2 Querschnitten in Nähe des Nabels und der Krone gemessenen Hohlraumes, der nach Entfernen des Faulbreies entsteht. Das so gewonnene Zahlenmaterial ist nach der Methode der überlagerten Fälle für die 4 verschiedenen Versuchbedingungen getrennt ausgewertet worden. Zu allen synchronisierten Zunahmen und Abnahmen der Fäulnis um 2 mm und mehr wurden die Mittel der interdiurnen Luftdruckänderungen (Zu- oder Abnahme der Luftdruck-Tagesmittel aus den Messungen von 7.00, 14.00 und 21.00 Uhr) für die Stichzeiten der 24stündigen Bakterienvorzüchtung und der folgenden 24stündigen Fäulnis sowie für 3 Tage davor und danach in die Abbildung eingetragen.

Durch das Kurvenpaar 1 wird der unter ähnlichen Bedingungen früher erhaltene Befund bestätigt, daß die Naßfäule vor und in einem Hoch stärker um sich greift als im Tief. Dabei ist der Luftdruckgang, die offen gehaltenen Kulturen betreffend, für die Bakterienanzucht charakteristischer als für die darauf folgende Zeit der Bakterienentwicklung in der Kartoffelknolle. Für die durch Aluminium abgeschirmten Kulturen (Kurvenpaare 2 und 4) besteht dagegen das umgekehrte Verhältnis. Außerdem wird die Korrelation zum Druckverlauf während der ungeschützten Bakterienanzucht völlig umgekehrt, wenn diese nicht auf Agar, sondern in Kartoffelsaft vorgenommen wird (Kurvenpaar 3). Unter den 3 anderen Bedingungen ist kein genau spiegelbildlicher Verlauf der jeweiligen beiden Kurven für Krankheitszu- und -abnahme zu erkennen, sondern nur eine geringere Phasenverschiebung, bei den offen gehaltenen Kulturen in umgekehrter Richtung wie bei den mit Aluminium abgedeckten. Mit einziger Ausnahme der Krankheitszunahmen bei offener Bakterienanzucht in Lösung (Kurvenpaar 3) wurden die Krankheitszu- und -abnahmen unter der Aluminiumfolie schon bei geringerem Druckanstieg oder stärkerem Druckfall erreicht als ohne Aluminium, offenbar eine Folge der Abschirmung von „T-Strahlen" durch die Aluminiumfolie.

Zumindest ein Teil aller aufgefundenen Besonderheiten läßt sich damit erklären, daß *Bact. phytophthorum* nicht streng aerob ist. Erfahrungsgemäß werden aber anaerobe Stoffwechselvorgänge durch „T-Strahlen" gefördert und nicht, wie die aeroben Prozesse, durch „H-Strahlen". In dem Maße also, wie die Lebensbedingungen des Bakteriums von aeroben in anaerobe umgewandelt werden, muß sich auch die Beziehung des Infektionserfolges zum Luftdruckgang mehr oder weniger umkehren.

Literatur

1. Bortels, H., Über Beziehungen zwischen epidemiologischem und meteorologischem Geschehen, unter besonderer experimenteller Berücksichtigung der Inhibinwirkung. Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. **104**, 1942, 298—325.
2. — —, Über die Abhängigkeit der Virulenz und anderer Eigenschaften pflanzenpathogener Bakterien sowie des Infektionserfolges vom Wetterverlauf. Phytopath. Zeitschr. **15**, 1949, 376—393.
3. — —, Beziehungen zwischen Witterungsablauf, physikalisch-chemischen Reaktionen, biologischem Geschehen und Sonnenaktivität. Die Naturwiss. **38**, 1951, 165—176.
4. — —, Mikrobiologischer Beitrag zur Klärung der Ursachenfrage in der Meteorobiologie. Arch. f. Mikrobiol. **14**, 1950, 450—508.

Besprechungen

Kuckuck, Hermann. Entwicklung und Probleme neuzeitlicher Pflanzenzüchtung. Mendel oder Lyssenko. Berlin, Verlag Paul Parey, 1951, 75 S., DM 6,80.

Die allgemeine Tendenz der vorliegenden Sammlung von 5 Vorträgen wird wohl am besten durch den Untertitel „Mendel oder Lyssenko" charakterisiert, auch wenn die Mehrzahl der zu einem Buch vereinigten Vorträge sich mit dieser Frage nicht unmittelbar zu befassen scheint. Aber auch diese Vorträge richten sich, allerdings nur durch die objektive Darlegung der durch die genetische Forschung im Sinne Mendels erzielten Fortschritte ausgesprochen gegen die Anschauungen Lyssenkos. Es ist sehr zu begrüßen, daß der Verlag Paul Parey diese Vorträge nunmehr einem größeren und interessierten Leserkreis zugänglich gemacht hat.

Der erste, im Genetischen Kolloquium in Müncheberg am 22. November 1948 gehaltene Vortrag behandelt „Lyssenkos Genetik und ihre Anwendung in der Pflanzenzüchtung". Bei der Darstellung ist zu berücksichtigen, daß der Verfasser damals Leiter der Zentralforschungsanstalt für Pflanzenzucht, Erwin Baur-Institut in Müncheberg (Ostzone) war. Die Ausführungen sind deshalb in der Form sehr vorsichtig gehalten; sachlich stellen sie bei aller Anerkennung gewisser, von Lyssenko erzielter Erfolge auf dem Gebiet des Pflanzenbaues eine eindeutige Ablehnung der „Lyssenkoschen Genetik" dar. Noch deutlicher geht dieser ablehnende Standpunkt des Verfassers aus den während der Drucklegung eingeschalteten Absätzen hervor, die im übrigen wohl besser als durch unauffällige Anmerkungen durch anderen Druck als solche gekennzeichnet worden wären.

Als zweiter Vortrag ist die an der Berliner Humboldt-Universität, also ebenfalls in der Ostzone, am 28. Januar 1949 gehaltene Antrittsvorlesung des Verf. über „Die Entwicklung der Pflanzenzüchtung in Deutschland von 1919 bis 1939" wiedergegeben. Neben einer eingehenden Darlegung der durch Anwendung moderner Züchtungsmethoden erzielten Fortschritte werden auch Organisationsfragen der praktischen Pflanzenzüchtung besprochen.

Der dritte Vortrag über „Neue Methoden der Pflanzenzüchtung" ist am 12. Dezember 1949 im Institut für Pflanzenzüchtung der Deutschen Saatzucht-Gesellschaft in Gr.-Lüsewitz bei Rostock, also ebenfalls in der Ostzone, gehalten und behandelt Auslese-, Kombinations-, Inzucht-Heterosis- und Mutationszüchtung. Wichtig für die Beurteilung des Vortrages ist vor allem das, was nicht gesagt wurde, denn die „Lyssenkosche Genetik" findet mit keinem Wort Erwähnung. Die Darlegung des gebrachten Tatsachenmaterials richtet in der Tat am besten die Thesen Lyssenkos, auch wenn den Umständen nach hierauf gar nicht hingewiesen wird.

Der vierte Vortrag „20 Jahre Pflanzenzüchtung in Müncheberg" ist älteren Datums und am 2. Oktober 1948 bei der 20-Jahrfeier der Zentralforschungsanstalt für Pflanzenzucht, Erwin Baur-Institut in Müncheberg gehalten. Es stellt das Hohe Lied auf die Erfolge der Pflanzenzüchtung durch genetische Methoden dar, wobei auch der russische Forscher und Gegner Lyssenkos, Vavilov, anerkennend erwähnt wird.

Der fünfte und letzte Vortrag, die „Pflanzenzüchtung in Schweden", ist am 29. November 1950 im Institut für Vererbungs- und Züchtungsforschung in Berlin-Dahlem gehalten, also nicht mehr im Gebiet der Ostzone, die der Verfasser inzwischen verlassen hatte. Auch hier steht die Bedeutung der Genetik für die Pflanzenzucht im Vordergrund. Der Vortrag schließt mit einem Hinweis auf das in Svalöf neu errichtete Institut für Chromosomenforschung und gibt der Hoffnung

Ausdruck, daß „auch von deutscher Seite weiterhin Beiträge zur Entwicklung zytogenetischer Forschung in ihrer Anwendung auf die Pflanzenzüchtung geliefert werden"

Den Vorträgen ist ein Nachwort über „die Ausbildung von Pflanzenzüchtern und die Organisation der Pflanzenzüchtung in Deutschland" angeschlossen, das in bestimmter Richtung auch für uns Phytopathologen von Interesse ist; denn die gegenwärtigen Mängel in der Spezialausbildung der Landwirte zum Pflanzenzüchter liegen in gleicher Weise auch bezüglich der phytopathologischen Ausbildung vor. Nicht nur die Pflanzenzüchter, sondern auch die Phytopathologen haben sich bisher vielfach aus Diplom-Landwirten rekrutiert. Deshalb sollen die folgenden Ausführungen hier wiedergegeben werden: „Die notwendig erweiterte naturwissenschaftliche Ausbildung, die ein Pflanzenzüchter benötigt, konnte sich der Diplom-Landwirt bisher ohne Schwierigkeiten nebenher aneignen. Je umfangreicher aber die wissenschaftlichen Vorarbeiten in der Züchtung werden, wie z. B. bei der Anwendung der Inzucht-Heterosis-Methoden und der experimentellen Erzeugung von Genen und Genommutationen (Polyploidie) und ihrer praktischen Auswertung, um so mehr werden sich die Biologen mit ihrer breiteren naturwissenschaftlichen Bildung als überlegen erweisen, insbesondere in den wissenschaftlichen Züchtungsinstituten". Und weiter oben war schon gesagt: „Das bisher häufig angewandte Prinzip der Diplomlandwirte, durch Anfertigung einer Doktor-Arbeit aus dem Gebiet der Pflanzenzüchtung die Spezialausbildung zu ersetzen, muß heute abgelehnt werden. Bei den vielseitigen wissenschaftlichen und technischen Grundlagen, die ein moderner Pflanzenzüchter beherrschen muß, kann ein derartiger Ausbildungsgang den gegenwärtigen Forderungen nicht gerecht werden".

Ersetzen wir in den vorstehenden Ausführungen des Verfassers die Worte „Pflanzenzucht" und „Pflanzenzüchter" durch die Worte „Phytopathologie" und „Phytopathologe", so kommen wir damit für diese zu einer durchaus ähnlichen Betrachtungsweise und ebenfalls zu der Frage, woher sich unsere künftigen Phytopathologen „rekrutieren" sollen. Nach Ansicht des Referenten muß die phytopathologische Ausbildung der Landwirte während des Studiums weit mehr als bisher vertieft werden; sie wird und kann aber auch dann nicht an die der naturwissenschaftlich besser geschulten Biologen heranreichen, die sich vor allem für die neue Wege weisende Grundlagenforschung mehr und mehr unentbehrlich erweisen wird. Als eigentliches Arbeitsgebiet müßte dem phytopathologisch geschulten Diplomlandwirt der praktische Pflanzenschutzdienst vorbehalten werden, wo er in der Mehrzahl der Fälle wegen seiner größeren praktischen Erfahrungen dem mehr akademisch und rein wissenschaftlich geschulten Biologen gegenüber überlegen sein dürfte.

G. Gassner

Untersuchungen über die Wirkung von 2,4 D im Boden

I. Mitteilung: Eine verbesserte Nachweismethode und orientierende Versuche über die Haltbarkeitsdauer des Wuchsstoffs im Boden

Von

C. Stapp und R. Freter

Mit 3 Abbildungen

A. Nachweis

Die 2,4 Dichlorphenoxyessigsäure (2,4 D) wird in den letzten Jahren immer häufiger auch in Deutschland als synthetischer Wuchsstoff zur selektiven Unkrautbekämpfung angewandt. Es ist daher notwendig geworden, die wichtigsten Ergebnisse der zahlreichen, in der angelsächsischen Literatur über dieses Thema veröffentlichten Arbeiten zu kontrollieren und zu prüfen, ob diese auch für deutsche Verhältnisse zutreffen.

Für die meisten derartigen Untersuchungen bedarf es einer einfachen, spezifischen und möglichst genauen Methode zum Nachweis der 2,4 D in Medien unbekannter Zusammensetzung wie Böden, manchen Nährlösungen und dergleichen. Mehrere englische und amerikanische Autoren haben sich mit diesem Problem befaßt. Ihre Nachweismethoden basieren auf folgenden Reaktionen: 1. Hemmung der Keimfähigkeit von Samen bzw. der Entwicklungsfähigkeit von Keimlingen, 2. Wachstumshemmung der Primärwurzeln von Keimlingen, 3. Absorption ultravioletten Lichtes durch Lösungen von 2,4 D, 4. Bildung gefärbter chemischer Verbindungen.

Hamner und Mitarb. (1946), Mitchell und Mitarb. (1946), de Rose (1946), Kries (1947), De Rose und Mitarb. (1947) und Taylor (1947) untersuchten die unter 1) genannten Eigenschaften der 2,4 D und benutzten sie zur Bestimmung von Stärke und Dauer der Toxizität in verschiedenen Böden unter wechselnden Bedingungen. Sie konnten auf diese Weise aber nur einen ungefähren Anhaltspunkt für die vorhandene Wuchsstoffmenge geben. — Die chemischen Farbreaktionen eignen sich nach den Angaben von Warshowsky und Mitarb. nicht für quantitative Zwecke.

Sehr viel genauere Ergebnisse liefern die von Audus und Mitarb. (1947) mit Kresse und Möhren und von Swanson (1946) sowie von Hanks (1947) mit Mais ausgearbeiteten Methoden, denen als Kriterium der Einfluß des Wuchsstoffs auf das Längenwachstum von Primärwurzeln zugrunde liegt.

Der von Bandursky (1947) beschriebene und von Warshowsky und Mitarb. (1950) verbesserte spektrometrische Nachweis arbeitet nach den Angaben der Autoren zweifellos am exaktesten. Warshowsky und Mitarb. extrahierten den zu untersuchenden Boden zunächst mit Wasser und schüttelten dieses dann — nach Ansäuern — mit Äthyläther aus.

Der Äther wurde verdampft und der Rückstand einer gegenläufigen Verteilung (countercurrent—distribution) zwischen Phosphatpuffer und Tributylphosphat unterworfen. Dadurch soll eine Störung des 2,4 D-Nachweises durch andere, ebenfalls UV-Strahlung absorbierende Substanzen vermieden werden. Die von Warshowsky und Mitarb. benutzten Apparaturen dürften jedoch den interessierten Instituten in Deutschland nur selten zur Verfügung stehen, so daß man hier auf die einfacheren biologischen Nachweismethoden wird zurückgreifen müssen. —

Unsere im folgenden beschriebenen Untersuchungen wurden sämtlich mit dem reinen Natriumsalz der 2,4 Dichlorphenoxyessigsäure ausgeführt. Die amerikanischen und englischen Autoren arbeiteten dagegen mit der reinen Säure oder anderen Salzen. Dieser Unterschied ist beim Lesen der Abkürzung 2,4 D zu beachten.

Zunächst haben wir die Methode von Swanson unter Verwendung von in Deutschland erhältlichem amerikanischen Hybridmais (Sorte US 13, nach Angabe des Händlers) nachgeprüft. Swanson hat, wie schon erwähnt, das Längenwachstum der Primärwurzeln von Maiskeimlingen unter Einwirkung von 2,4 D untersucht. Er ließ Maiskörner der Sorte Silver King in Petrischalen auf Filtrierpapier bei 26 ° C ankeimen und sortierte nach 48 Stunden diejenigen Keimlinge aus, deren Primärwurzeln eine Länge von 15 bis 25 mm erreicht hatten. Diese Keimlinge wurden in andere Petrischalen auf Filtrierpapier gelegt, das mit der zu untersuchenden 2,4 D-Lösung, bzw. als Kontrolle mit dest. Wasser getränkt war. Der Durchschnittswert der Wurzellängen in den einzelnen Petrischalen wurde beim Ansetzen des Versuchs und nach einer weiteren Wachstumsdauer von 48 Stunden ermittelt. Die Differenz beider Zahlen stellt den in der Wuchsstofflösung eingetretenen Längenzuwachs der Primärwurzeln dar. Durch Vergleich der in 2,4 D-Lösung und dest. Wasser ermittelten Werte soll sich dann der Wuchsstoffgehalt der benutzten Lösung nach einer von Swanson aufgestellten Tabelle mit einer Genauigkeit von ± 5 % bestimmen lassen.

Wir untersuchten auf diese Weise an verschiedenen Tagen zwei stets gleiche Lösungen mit einem 2,4 D-Gehalt von 0,0001 % und 0,00001 %. Die dabei ermittelten relativen Werte des Wurzelwachstums sind in Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1

Versuchs-		Relatives Wurzelwachstum in		
Nr.	Tag	Wasserkontrolle	0,0001 % 2,4 D	0,00001 % 2,4 D
1	1.—3.	100	60	81,5
2	5.—7.	100	66	92,5
3	6.—8.	100	45	80,5

Man ersieht daraus, daß die Maiswurzeln an verschiedenen Tagen derart unterschiedlich reagieren, daß ein sicherer Rückschluß auf die angewandten Konzentrationen nicht möglich ist. Würde man nämlich die im

2. Versuch aufgetretene Wachstumshemmung von 66 % mit einer Wuchsstoffkonzentration von 0,0001 % in Beziehung setzen, so müßte nach der von SWANSON angegebenen Tabelle eine Hemmung von 45 % (3. Versuch) der Konzentration 0,00023 % (das sind 230 % des wahren Wertes) entsprechen. Ein noch größeres Mißverhältnis ergäbe sich, wenn man das Wurzelwachstum in der 2,4 D-Lösung von 0,00001 % auswerten wollte.

Diese Schwankungen mögen darauf zurückzuführen sein, daß sich je nach den Umweltbedingungen nicht nur das Längenwachstum von Primärwurzeln als solches ändert, sondern daß auch die Empfindlichkeit gegen fördernde und hemmende Stoffe veränderlich ist, wie im hiesigen Institut in einer noch nicht veröffentlichten Arbeit an Kressewurzeln festgestellt wurde.

WARSHOWSKY und Mitarbeiter geben zudem bei ihrer Kritik der Methode von SWANSON zu bedenken, daß andere wachstumshemmende Stoffe im Boden die Untersuchung beeinflussen können, ohne daß eine solche Störung erkennbar wäre.

Wir haben deshalb versucht, eine andere, und zwar mikrobiologische Reaktion ausfindig zu machen, die sich zu einer Bestimmungsmethode für 2,4 D ausarbeiten ließe. Diese Versuche scheiterten jedoch an der anscheinend allgemein geringen Empfindlichkeit von Bakterien, Actinomyceten und niederen Pilzen, die meist etwa 100 bis 1000 mal kleiner ist als bei höheren Pflanzen. Deshalb wurde von uns eine verbesserte Methode auf Grund des Wachstums der Primärwurzeln von Erbsenkeimlingen entwickelt*), welche weitgehend frei von den oben beschriebenen Fehlerquellen ist.

Wir benutzten dazu Markerbsen der Sorte Thomas Laxton. Um den Einfluß von Umweltbedingungen auszuschalten, wurde die zu untersuchende 2,4 D-Lösung nicht mit einer Wasserkontrolle, sondern mit einer Verdünnungsreihe bekannter 2,4 D-Lösungen verglichen. Diese „Testreihe" bestand aus 6 Lösungen von je 9 ccm mit Konzentrationen von 0,0001 %; 0,0000562 %; 0,0000317 %; 0,0000178 %; 0,00001 % und 0,00000562 %. Die Lösungen wurden in je eine offene Petrischale von 10 cm Durchmesser gegeben, deren Boden mit einer Zellstofflage von 12 Schichten (etwa 1,5 g) bedeckt war. Zusätzlich wurde der Zellstoff noch mit 11 ccm dest. Wasser befeuchtet. (Die dadurch veränderte Konzentration braucht bei der späteren Auswertung nicht berücksichtigt zu werden, da es nur auf Relativwerte ankommt.)

Die Schalen wurden mit vorgekeimten Erbsen beschickt. Diese waren 48 Stunden vor Ansetzen der Analyse in sterilisierte Pikierkästen zwischen Zellstofflagen gebracht und mit Leitungswasser feucht gehalten worden. Die Keimung erfolgte im Dunkeln in der Brutkammer bei 26° C. Am Verwendungstage wurden die Keimlinge in 2 Klassen sortiert, eine mit Wurzellängen von 0,5—5 mm, die andere mit Wurzellängen von 5—10 mm.

*) Die Reaktionsweise der Keimlinge von Feuerbohnen, Gartenbohnen, Wicken, Senf und Sonnenblumen war in unseren Versuchen weniger günstig.

Jede Petrischale der Testreihe erhielt eine gleiche Anzahl von Keimlingen beider Klassen, insgesamt etwa 10. Die Keimlinge wurden mit 2 Lagen Zellstoff bedeckt und die Petrischalen offen in den Brutraum (26 ° C) gebracht, wo sie 4—5 Tage lang im Dunkeln verblieben. Etwa jeden zweiten Tag wurden die Verdunstungsverluste ersetzt. Da die absolute Menge des dabei zugeführten dest. Wassers unerheblich ist, haben wir in jede Petrischale jeweils die gleiche Menge gegeben.

Mit der zu untersuchenden 2,4 D-Lösung wurde entsprechend verfahren („Analysenreihe"), nur mußte die Zahl der Verdünnungen je nach Kenntnis des ungefähren Prozentgehalts mehr oder weniger erweitert werden. Alle Lösungen wurden auf pH 6 eingestellt.

Nach 4 oder 5 Tagen wurden die Längen von Hypokotyl + Primärwurzel gemessen und der Durchschnittswert für jede Verdünnung errechnet. Das Hypokotyl bleibt bei den hypogäisch keimenden Erbsen so kurz, daß man seine Länge vernachlässigen kann. Man erspart sich auf diese Weise die mühsame Bestimmung der Grenze zwischen Hypokotyl und Primärwurzel.

Als typische 2,4 D-Wirkung läßt sich an den Erbsen erkennen, daß

1. das Wachstum der Primärwurzeln schon deutlich gehemmt ist, während das Epikotyl noch keine nennenswerte Verkürzung zeigt (um das Wachstum des Epikotyls nicht zu stören, wurden offene Petrischalen benutzt),
2. bei den höheren Konzentrationen von 2,4 D das Hypokotyl stark verdickt ist.

Dadurch ist schon eine gewisse Spezifität des Nachweises gegeben. Da wir in jeder Verdünnung der Lösungen nur 10 Erbsen keimen ließen (Swanson benutzte je 75 Maiskeimlinge), mußte ein Verfahren entwickelt werden, das die sämtlichen angesetzten Verdünnungen in einer einzigen Rechnung auszuwerten gestattet. Nur so kann eine genügend hohe Anzahl von Einzelwerten benutzt und damit der Fehler in erträglichen Grenzen gehalten werden, ohne gleichzeitig den experimentellen Aufwand gegenüber der Methode von Swanson zu erhöhen. Zu diesem Zweck wurden in einer graphischen Darstellung auf der Ordinate die Logarithmen der durchschnittlichen Wurzellängen und auf der Abszisse die Logarithmen der Konzentrationen aufgetragen (Abb. 1).

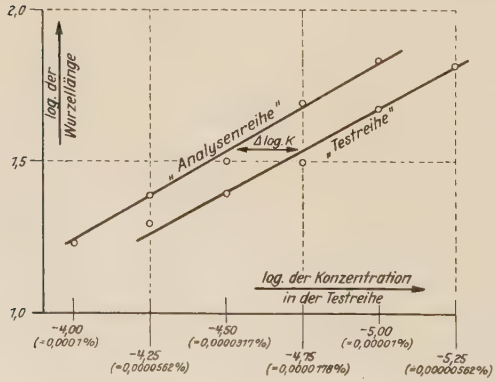


Abb. 1. Untere Gerade: Verdünnungsreihe aus einer bekannten 2,4 D-Lösung.

Obere Gerade: Entsprechende Verdünnungen einer 2,4 D-Lösung von unbekannter Konzentration

Die Abhängigkeit beider Größen voneinander läßt sich in einem bestimmten, meist 5 Verdünnungen umfassenden Intervall recht befriedigend durch eine Gerade darstellen. Sind Test- und Analysenreihe in gleicher Weise angesetzt worden, so gibt der waagerechte Abstand der beiden durch die Meßpunkte gelegten Geraden den Logarithmus des Konzentrationsunterschiedes (Δ log k in Abb. 1) an. Für viele Zwecke wird ein Abgreifen dieser Strecke mit dem Zirkel an mehreren Stellen (die Geraden laufen innerhalb der Fehlergrenzen nicht parallel) und einfache Mittelwertbildung aus den gemessenen Abständen genügend genaue Ergebnisse liefern.

In Abb. 1 ist dieser Abstand $\Delta \log k = 0{,}24$. Bezeichnet man die Ausgangskonzentration der bekannten 2,4 D-Lösungen (Testreihe) mit k_1, die der unbekannten Lösungen (Analysenreihe) mit k_2, so ist also

$$\log k_1 - \log k_2 = \Delta \log k = 0{,}24 \text{ oder}$$
$$\frac{k_1}{k_2} = \text{num}\, \Delta \log k = 1{,}75.$$

Wünscht man die Lage der Geraden zu berechnen, so genügt es, eine Ausgleichsrechnung mit den Durchschnittswerten der Wurzellängen auszuführen. Da diese Berechnungsweise nicht jedem Biologen geläufig sein dürfte, sei sie hier kurz am Beispiel der Fig. 1 skizziert*):

Die Geraden haben allgemein eine Gleichung von der Form

$$\log k_i = \beta \cdot \log l_i + \alpha \text{ oder}$$
$$\text{(I)} \quad \beta \cdot \log l_i - \log k_i + \alpha = d = 0,$$

wobei k_i eine beliebige Konzentration und l_i die dazugehörige Wurzellänge innerhalb der Verdünnungsreihe bedeuten sollen. α und β sind die durch Rechnung zu ermittelnden Konstanten. Man bezeichnet nun diejenige Gerade als die wahrscheinlichste, bei der $\sum d^2$ für die gemessenen Werte möglichst klein wird. Praktisch setzt man noch

$$\text{(II)} \quad \alpha - \alpha_0 = u \quad \text{und} \quad \text{(III)} \quad \beta - \beta_0 = s$$

und führt α_0 und β_0 als willkürliche Näherungswerte für α und β in die folgende Rechnung, aus der dann u und s resultieren, ein.

Aus der Forderung $\sum d^2 \to 0$ ergeben sich durch Differenzieren folgende Gleichungen:

$$\text{(IV)} \quad u \cdot n + s \cdot \sum \log l_i = \sum r_i$$
$$\text{(V)} \quad u \cdot \sum \log l_i + s \cdot \sum (\log l_i)^2 = \sum (\log l_i) \cdot r_i$$

Dabei sind: n gleich der Anzahl der ausgewerteten Meßpunkte (im Beispiel = 5); r_i gleich $\log k_i - (\alpha_0 + \beta_0 \cdot \log l_i)$. Die einzelnen Glieder der Gleichungen bestimmt man am leichtesten mittels Tabelle 2 (die Werte entsprechen der Testreihe in Fig. 1; α_0 wurde gleich +2 und β_0 gleich −2 gesetzt).

*) verändert zitiert nach der Niederschrift über eine Vorlesungsreihe von Herrn Prof. H. Blenk, dem wir auch für seine Ratschläge zur statistischen Auswertung zu großem Dank verpflichtet sind.

Tabelle 2

$\log k_i$	$\log l_i$	$\beta_0 \cdot \log l_i$	$\alpha_0 + \beta_0 \cdot \log l_i$	$r_i = \log k_i - (\alpha_0 + \beta_0 \cdot \log l_i)$	$(\log l_i)^2$	$(\log l_i)\, r_i$
—4,25	1,292	—2,584	—0,584	— 3,666	1,669	— 4,736
—4,50	1,393	—2,786	—0,786	— 3,714	1,940	— 5,174
—4,75	1,497	—2,994	—0,994	— 3,756	2,241	— 5,623
—5,00	1,672	—3,344	—1,344	— 3,656	2,796	— 6,113
—5,25	1,816	—3,632	—1,632	— 3,618	3,298	— 6,570
	7,670 $= \sum \log l_i$			—18,410 $= \sum r_i$	11,944 $= \sum (\log l_i)^2$	—28,216 $= \sum (\log l_i)\, r_i$

Es sind also in diesem Beispiel:

$$\text{(IVa)} \quad u \cdot 5 + s \cdot 7{,}670 = -18{,}410$$
$$\text{(Va)} \quad u \cdot 7{,}670 + s \cdot 11{,}944 = -28{,}216$$

Aus den Gleichungen (IVa) und (Va) bestimmt man zunächst s (= 0,145 in diesem Beispiel). Dann führt man die Ausgleichsrechnung auch für die Verdünnungsreihe von unbekannter Konzentration durch und erhält die entsprechenden Gleichungen (IVb) und (Vb). Von den beiden Werten für s errechnet man den Mittelwert und setzt diesen in die Gleichungen (IVa) bzw. (IVb) ein. Die Differenz der auf diese Weise für beide Geraden erhaltenen Werte von u ist gleich Δ log k. Durch Einsetzen der Werte von s und u in die Gleichungen (II) und (III) bekommt man die Werte von α und β für die wahrscheinlichsten parallelen Geraden durch die gegebenen Meßpunkte.

Der durchschnittliche Fehler unserer Versuche mit 2,4 D-Lösungen lag bei Δ log k = $\pm$ 0,04; das Ergebnis war also im Durchschnitt mit einem Unsicherheitsfaktor von 1,1 behaftet. Hierbei sei ausdrücklich betont, daß wir uns mit dieser Genauigkeit begnügt haben, da es zwecklose Mehrarbeit wäre, bei der Untersuchung biologischer Abbauprozesse, die als solche ja schon ungleichmäßig verlaufen, eine exaktere Analyse durchführen zu wollen. Man kann jedoch die Genauigkeit unserer Methode erhöhen, wenn man eine größere Zahl von Erbsenwurzeln — statt wie hier beschrieben nur 100 — auswertet, was durch kleinere Konzentrationsabstufungen in den Verdünnungsreihen geschehen könnte. Swanson benutzte beispielsweise für seine oben beschriebene Methode schon 150—225 Maiskeimlinge.

Erdproben wurden auf ihren 2,4 D-Gehalt hin folgendermaßen untersucht: Etwa 500 g Erde wurden mit 1000 ccm dest. Wasser aufgeschwemmt, 1 Stunde lang unter zeitweiligem Aufschütteln stehengelassen und dann klar filtriert. Als Filtrat fielen etwa 800 ccm Flüssigkeit an, die also $\frac{(1000 + B) \cdot 100}{800}$ % des im Boden vorhandenen und nicht adsorbierten Wuchsstoffs enthalten müssen, da dieser wasserlöslich ist. B ist dabei die schon im Boden vorhandene Wassermenge. Das Filtrat wurde mit 25 ccm konz. Salzsäure angesäuert und dreimal mit je 200 ccm Äther extrahiert. Da-

bei geht, wie schon WARSHOWSKY und Mitarbeiter feststellten, die 2,4 D aus der Wasserphase vollständig in den Äther über. Dieser wurde mit 10 ccm dest. Wasser und 15 Tropfen n-Natronlauge versetzt und dann abdestilliert. Die zurückbleibende Flüssigkeit konnte nun, nach Einstellen mit Salzsäure auf pH 6 zu einer Analysen-Verdünnungsreihe verarbeitet werden.

Als Testreihe wurde von uns zunächst ein entsprechender Auszug aus wuchsstofffreier Erde, dem nachher eine bekannte Menge 2,4 D zugefügt worden war, benutzt. Es zeigte sich jedoch, daß ein solcher Erdauszug die Lage der Testgeraden nicht wesentlich beeinflußt. Ein ätherischer Extrakt aus unbehandelter Erde hemmt zwar in starker Konzentration etwas das Wurzelwachstum, dieser Effekt spielt jedoch bei den praktisch angewandten Konzentrationen keine Rolle, wie wir bei Extrakten aus Sandboden, Komposterde und Lehmboden feststellten (Abb. 2).

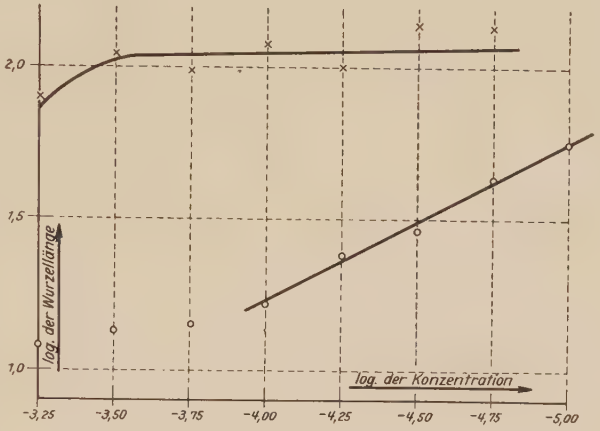


Abb. 2
Vergleich eines Extrakts aus 2,4 D-haltigem Lehmboden mit einem in gleicher Weise hergestellten Extrakt ohne 2,4 D
o——o Extrakt mit 2,4 D x——x Extrakt ohne 2,4 D

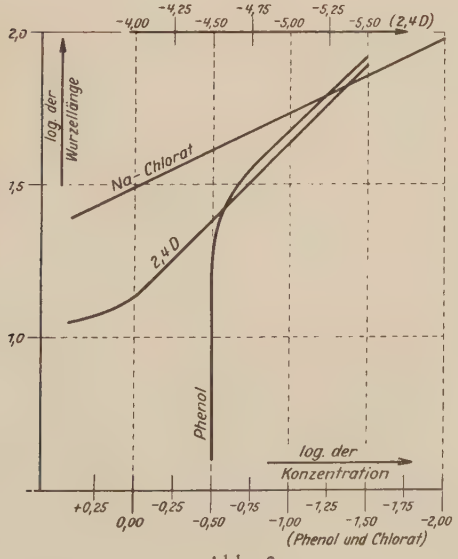


Abb. 3
Wirkungskurven verschiedener Hemmstoffe

Zur Frage der Spezifität des Nachweises sei noch einmal auf die oben beschriebenen, bei Erbsen auftretenden spezifischen Wuchsstoffwirkungen verwiesen. Daneben gibt aber auch die graphische Darstellung einen Aufschluß über die jeweilige Ursache der beobachteten Hemmung des Wurzelwachstums. In Abb. 3 sind als willkürliche Beispiele die Hemmwirkungen von Phenol und Natriumchlorat mit der von 2,4 D verglichen. Man sieht, daß entweder wie beim Phenol keine genügend lange Gerade entsteht oder daß die Gerade eine andere Steigung aufweist (Chlorat).

*

Die beschriebene Nachweismethode kann also unbemerkt nur durch einen Stoff gestört werden,

1. der wie 2,4 D aus saurer wässriger Lösung mit Äther extrahierbar ist,
2. der das Hypokotyl von Erbsenkeimlingen verdickt,
3. der stärker auf das Wachstum der Primärwurzel als auf die Entwicklung des Epikotyls einwirkt und
4. dessen Wirkung graphisch dargestellt eine Gerade von ungefähr gleicher Steigung wie bei 2,4 D ergibt.

Die Wahrscheinlichkeit dafür, daß ein solcher Stoff im Boden auftritt, ist u. E. gering.

Die erwähnten spezifischen Merkmale treten bei Mais, den Swanson benutzte, nicht deutlich in Erscheinung. Außerdem ist Mais um das 20fache weniger empfindlich. Er bietet dafür den Vorteil, daß eine genügende Entwicklung schon nach 2 Tagen eingetreten ist. Sollte bei bestimmten Untersuchungen hierauf der größere Wert zu legen sein, so kann unsere Nachweismethode *mutatis mutandis* auch mit Mais ausgeführt werden. —

B. Dauer der Wuchsstoffwirkung

Über die Dauer der toxischen Wirksamkeit von 2,4 D im Boden liegt eine große Anzahl amerikanischer und englischer Untersuchungen vor:

Mitchell und Marth (1946) geben an, daß 2,4 D in trockenem Boden über 18 Monate lang wirksam bleibt, in warmem, feuchten Boden jedoch schon nach 14 Tagen verschwunden ist. De Rose (1946) stellte fest, daß selbst sehr große Mengen von 2,4 D nicht länger als 80 Tage im Boden verbleiben. Nach den Untersuchungen von Hamner, Moulton und Turkey (1946) ist 2,4 D in Komposterde in weniger als 4 Wochen vollständig abgebaut, selbst wenn vorher eine Konzentration von 0,01 % vorhanden gewesen war. Hanks untersuchte im Jahre 1947 6 verschiedene Böden (Sand, Torf, Lehm, Ton etc.) und fand, daß die toxische Wirkung des Wuchsstoffes meist schon nach 2—3 Wochen nicht mehr nachweisbar ist. Nur in stark alkalischem, sandigen Ton hielt sich die Giftwirkung länger als 6 Wochen. Kalkzusätze zu den Böden hatten in seinen Versuchen keinen großen Einfluß. Da Hanks eine geringe Modifikation der Methode von Swanson zum Nachweis der 2,4 D benutzte, zeigen seine Versuchsergebnisse Schwankungen bis zu 50 % in den relativen Wurzellängen, die sich u. E. nicht anders erklären lassen als durch die auch von uns festgestellten Unregelmäßigkeiten des Wurzelwachstums. Nach Taylor (1947) liegt die Dauer der 2,4 D-Wirkung im Boden zwischen 4 und 7 Wochen. Kries (1947) fand im Gegensatz zu Hanks einen langsameren Abbau des Wuchsstoffs in kalkhaltigen Böden. De Rose und Newman (1947) stellten fest, daß 2,4 D um so schneller aus Erde verschwindet, je feuchter und wärmer diese gehalten wird. Je nach den Bedingungen brauchten sie 14 bis 67 Tage. Audus (1949) ließ je 200 ccm verschiedener 2,4 D-Lösungen von 0,001—0,1 % durch Proben von je 50 g lehmiger Gartenerde ständig zirkulieren. Durch tägliche Probeentnahmen stellte er den sinkenden Wuchsstoffgehalt dieser Lösungen fest. Es zeigte sich innerhalb der ersten 4 Tage eine sehr geringe Abnahme der 2,4 D-Konzentrationen, die Audus auf Adsorption zurückführen möchte. Zwischen dem 8. und 10. Versuchstag verschwand dann plötzlich die gesamte 2,4 D-Menge. Später neu zugeführter Wuchsstoff war danach stets schon innerhalb von 2 bis 3 Tagen nicht mehr nachzuweisen. Dieses Verhalten ist nach Audus ein Beweis für den biologischen Abbau der 2,4 D. In späteren Versuchen (1950) gelang es ihm dann auch, ein 2,4 D abbauendes Bakterium aus Boden zu isolieren.

Alle beschriebenen Untersuchungen ergeben also übereinstimmend, daß 2,4 D im Boden innerhalb weniger Wochen auf biologischem Wege vollständig abgebaut wird. Will man nun diese Feststellungen auf deutsche Verhältnisse übertragen, so genügt es u. E., lediglich festzustellen, ob der Abbau des Wuchsstoffes in deutschen Böden größenordnungsmäßig ebenso stark ist wie in amerikanischen und englischen.

Zu diesem Zweck wurden in 6 sterile Erlenmeyerkölbchen von 200 ccm Inhalt je 60 g feuchte Komposterde (pH 7,4) abgefüllt. Zu dreien dieser Kölbchen wurden je 10 ccm 0,02 prozentige 2,4 D-Lösung (= 2 mg 2,4 D), zu den anderen dreien je 10 ccm dest. Wasser gegeben. Alle Erdproben wurden im Brutraum bei 26 ° C aufbewahrt. Um den 2,4 D-Gehalt zu bestimmen, verarbeiteten wir in gewissen Zeitabständen ein Kölbchen mit 2,4 D-haltiger Erde zu einer Analysenreihe und ein Kölbchen mit Wasser behandelter Erde zu einer Testreihe. Diese Analysen ergaben, daß nach einer Aufbewahrungszeit

von	4 Stunden	7 Tagen	und	14 Tagen
noch	2 mg	1,4 mg	und	0 mg 2,4 D in

der Erde vorhanden waren. Unter den gewählten Bedingungen behielt also selbst eine so große Menge des Wuchsstoffes, wie sie hier benutzt wurde (auf die Oberfläche umgerechnet etwa 5 kg/ha), keine 14 Tage lang ihre Wirksamkeit.

Um den natürlichen Verhältnissen möglichst nahezukommen, wurden außerdem Freilandversuche mit folgenden Böden angesetzt: 1. Leichter Sandboden (pH 5,8), 2. Lehmboden (pH 6,2), 3. Komposterde (pH 5,7). Je 6 Proben dieser Böden wurden in Blechrohre von 5,6 cm Durchmesser und 26 cm Höhe fest eingestampft und diese Rohre senkrecht derart in die Erde gegraben, daß sie etwa 6 cm über die Oberfläche hinausragten. Als Standort wurde ein schattiger Platz unter den Zweigen eines Baumes gewählt, um Feuchtigkeitsverhältnisse herzustellen, wie sie etwa auf einem bewachsenen Felde herrschen mögen. 3 Proben von jeder Bodensorte erhielten eine Gabe von 0,25 mg 2,4 D, in 25 ccm Wasser gelöst, was der praktisch angewandten Dosis von 1 kg/ha entspricht. Die übrigen je 3 Proben blieben unbehandelt und dienten zur Herstellung der Testreihen. Die Ergebnisse der Analysen sind in Tabelle 3 angegeben. Die Durchschnittstemperatur betrug während der ersten 7 Tage 16,0 ° C, die Regenmenge 22,7 mm. Vom 7. bis zum 14. Tage lagen diese Werte bei 19,1 ° C bzw. 15,5 mm.

Tabelle 3

Bestimmung des 2,4 D - Gehaltes nach	Sandboden	Lehmboden	Komposterde
7 Tagen	0,096 mg	0,025 mg	0,07 mg
14 Tagen	0 mg	0 mg	0 mg

Der festgestellte schnellere Abbau im Lehmboden mag in dem für Bakterien günstigeren pH der benutzten Probe begründet sein. Wenn man jedoch bedenkt, daß nach Audus die gesamte Wuchsstoffmenge im Boden innerhalb von 1—2 Tagen abgebaut wird, während sich in der Woche vor diesem Zeitabschnitt der 2,4 D-Gehalt nicht wesentlich ändert, so wird man folgern können, daß im Lehmboden unseres Versuchs der zugesetzte Wuchsstoff nur um einige Stunden schneller zersetzt worden sein dürfte als in den anderen Erdproben. Dieser Unterschied wird demnach noch innerhalb der Fehlergrenzen derartiger biologischer Reaktionen liegen.

Nach Audus sowie nach Warshowsky und Mitarbeiter ist die sofort im Boden verschwindende, vermutlich also an Bodenkolloide adsorbierbare 2,4 D-Menge sehr gering. Wir untersuchten zur Klärung dieser Frage 2 Proben von je 550 g (Trockengewicht) Lehmboden und Komposterde, die mit 0,25 mg 2,4 D, in dest. Wasser gelöst, versetzt worden waren und über Nacht bei Zimmertemperatur gestanden hatten. Zur Herstellung der Testreihen wurden entsprechende unbehandelte Proben benutzt. Am nächsten Morgen ließen sich aus dem Lehmboden nur noch 0,18 mg und aus der Komposterde nur noch 0,19 mg 2,4 D extrahieren. 500 g Boden adsorbieren demnach also etwa 0,06 mg 2,4 D. Dieses Ergebnis stimmt recht gut mit einer Angabe von Warshowsky und Mitarbeiter überein, die nach Zugabe von 4 mg 2,4 D zu 2 Pounds (900 g) trockenem Boden einen Verlust von 0,09 mg mit ihrer UV-Absorptionsmethode ermittelten.

Unsere Versuche bestätigen also die Richtigkeit der amerikanischen und englischen Angaben über die Geschwindigkeit des 2,4 D-Abbaues. Man kann demnach bei der praktischen Anwendung der 2,4 D zur Unkrautbekämpfung auch in Deutschland damit rechnen, daß unter „normalen" Bedingungen nach spätestens 4—6 Wochen keine Wuchsstoffwirkung mehr im Boden vorhanden ist.

Zusammenfassung

1. Die in der amerikanischen und englischen Literatur angegebenen biologischen Nachweismethoden für 2,4 D wurden nachgeprüft. Sie erwiesen sich als zu ungenau für exakte Untersuchungen.

2. Auf Grund des Wachstums der Primärwurzeln von Erbsenkeimlingen wurde eine verbesserte Nachweismethode ausgearbeitet.

3. Die zahlreichen amerikanischen und englischen Untersuchungen über die Dauer des Vorhandenseins von 2,4 D in verschiedenen Böden konnten bestätigt werden.

Literaturverzeichnis

Audus, L. I., 1949. Detoxication of 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid in Soil. Plant and Soil II p. 31—36.

—, 1950. Detoxication of 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid in Soils: Isolation of an effective Organism. Nature (London) 166 p. 356—359.

Audus, L. I. and Quastel, I. H., 1947. Coumarin as a selective phytocidal agent. Nature (London) 159 p. 320—324.

Bandursky, R. S., 1947. Spectrometric Method for Determination of 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid. Bot. Gaz. 108 p. 446—449.

Hamner, C. L., Moulton, L. E. and Turkey, H. B., 1946. Treatment of Muck and Manure with 2,4 D to inhibit Germination of Weed Seeds. Science (N. Y.) 103 p. 476.

Hanks, R. W., 1947. Removal of 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid and its Calcium Salts from six different Soils by Leaching. Bot. Gaz. 108 p. 186—191.

Kries, H., 1947. Persistence of 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid in Soil in Relation to Content of Water, organic Matter and Lime. Bot. Gaz. 108 p. 510—525.

Mitchell, I. W. and Marth, P. C., 1946. Germination of Seeds in Soil containing 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid. Bot. Gaz. 107 p. 408—416.

de Rose, H. R., 1946. Persistence of some Plant Growth—Regulators when applied to the Soil in herbicidal Treatments. Bot. Gaz. 107 p. 583—589.

de Rose, H. R. and Newman, A. S., 1947. The Comparison of certain Plant Growth—Regulators when applied to soil. Soil Sci. Soc. Proc. 12 p. 222—225.

Swanson, C. P., 1946. A simple Bio—Assay Method for the Determination of low Concentrations of 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid in aqueous Solutions. Bot. Gaz. 107 p. 507—509.

Tayler, D. L., 1947. Growth of Field Crops in Soil treated with chemical Growth—Regulators. Bot. Gaz. 108 p. 432—445.

Warshowsky, B. and Schantz, E. D., 1950. Determination of 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid in Soil. Anal. Chem. 22 p. 460—463.

Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Über Dispositionsverschiebungen bei der Bildung von Wurzelknöllchen

Von

Lukas Stalder

Mit 8 Abbildungen

Inhaltsverzeichnis: Einleitung und Problemstellung. — 1. Kapitel. Die Kulturmethode: a) Das Impfmaterial. b) Die Versuchstechnik. c) Die Versuchsanordnung. — 2. Kapitel. Der Einfluß des Stickstoffes auf die Knöllchenproduktion an den Wurzeln von *Pisum sativum*: a) Der Einfluß des Stickstoffes auf die Infektionshäufigkeit. b) Der Einfluß des Stickstoffes auf das Knöllchenwachstum. — 3. Kapitel. Der Einfluß der Phosphorsäure auf die Knöllchenproduktion an den Wurzeln von *Pisum sativum*: a) Der Einfluß der Phosphorsäure auf die Infektionshäufigkeit. b) Der Einfluß der Phosphorsäure auf das Knöllchenwachstum. — 4. Kapitel. Der Einfluß der Temperatur der Nährlösung auf die Knöllchenproduktion an den Wurzeln von *Pisum sativum*: § 1. Der Einfluß der Temperatur der Nährlösung auf die Infektionshäufigkeit. a) Der Einfluß auf das Verhalten des Erregers. b) Der Einfluß auf das Verhalten des Wirtes. § 2. Der Einfluß der Temperatur der Nährlösung auf das Knöllchenwachstum. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung und Problemstellung

Während langer Zeit bestand die Ansicht, daß die Knöllchenbildung an den Wurzeln der Leguminosen das Resultat einer friedlichen Symbiose darstellt, bei welcher sich Wirt und Erreger kampflos dulden und sich gegenseitig in ihren Lebensansprüchen ergänzen. Neuere Untersuchungen ergaben aber, daß dieser Lebensgemeinschaft ein aktiver Angriff seitens des Parasiten vorangeht, der die Widerstandskraft des Wirtes bricht. Die Bakterien dringen aktiv durch die Wurzelhaare in den Wirt ein und vermögen sich in der Wurzelrinde zu vermehren (Mc Coy, 1932 und Thornton, 1936 a). Auf diesen Angriff antwortet der Wirt mit plasmatischen Abwehrreaktionen, die den Parasiten zwar nicht zu eliminieren vermögen, ihn aber daran hindern, die Endodermis zu durchbrechen und die lebenswichtigen zentral gelegenen Leitbündel zu zerstören; er wird auf die Rindenpartien lokalisiert. Im günstigen Falle, d. h. wenn sich Wirt und Erreger kräftemäßig ebenbürtig sind, kommt es unter den andauernden Reizwirkungen der Bakterien zur Bildung eines sekundären Meristems im Rindengewebe, dessen Teilungs-

produkte zu den bekannten Wurzelknöllchen führen (Wunschik, 1925, Milovidov, 1928, Gäumann, 1944 und Gäumann, 1946).

Weiterhin ist bekannt, daß unter bestimmten Umweltsbedingungen trotz der Anwesenheit des Parasiten die Knöllchenbildung teilweise oder auch gänzlich unterbleiben kann. Dies ist dann der Fall, wenn durch äußere Einflüsse das Kräftegleichgewicht, das zwischen den beiden Partnern besteht, gestört wird. Ist der Wirt dem Parasiten überlegen, gehen unter Umständen die Infektionen nicht an und die Knöllchenbildung unterbleibt. Ist hingegen die Virulenz des Erregers so groß, daß die Abwehrkräfte des Wirtes nicht mehr genügen, so durchbricht er die Endodermis und zerstört die lebenswichtigen zentralen Gewebe, so daß die infizierten Wurzeln zerfallen (Gäumann, 1946). Eine Verschiebung dieses Aequivalenzzustandes der Kräfte kann demnach sowohl von der Seite des Erregers als auch von der Seite des Wirtes her erfolgen und ist umweltbedingt.

a) Verschiebungen des Kräftegleichgewichtes von der Seite des Erregers her

Wunschik (1925) gelang es, die Aggressivität eines avirulenten Stammes von Knöllchenbakterien durch kongeniale Wirtspassagen so zu steigern, daß dieser den Abwehrreaktionen des Wirtes ebenbürtig wurde, worauf es zur Knöllchenbildung kam. Von der vierten Passage an war jedoch seine Virulenz so gestiegen, daß die Abwehrreaktionen des Wirtes nicht mehr genügten, der Aequivalenzzustand nicht mehr realisiert werden konnte, und als Folge dessen die Knöllchenbildung von neuem wieder unterblieb.

b) Verschiebungen des Kräftegleichgewichtes von der Seite des Wirtes her

Zahlreicher noch sind Beispiele, wo dieses Kräfteverhältnis von der Seite des Wirtes her verschoben wird. Als Ursache sind hier in erster Linie die Intensität des einfallenden Lichtes und die Ernährung der Wirtspflanze zu erwähnen. Leonard (1926) bemerkte, daß die Tumorbildung an den Wurzeln von Sojabohnen bei ungenügender Lichtmenge unterblieb. Thornton (1930 a) stellte fest, daß bei infizierten Keimlingen von *Medicago sativa* L., welche im Dunkeln gehalten wurden, die Knöllchenbildung nicht vor sich ging und die schon gebildeten Knöllchen ihr Wachstum bald einstellten. In solchen Knöllchen nahmen die Bakterien extrem parasitären Charakter an, zerstörten Zytoplasma und Kerne der infizierten Zellen und traten in die Interzellularräume aus. Ähnliche Beobachtungen wurden auch von Diener (1950) gemacht.

Über den Einfluß der Stickstoffernährung auf die Knöllchenproduktion an den Leguminosenwurzeln wurden bereits 1864 von Rautenberg und Kühn Versuche mit *Vicia faba* L. durchgeführt. Sie stellten fest, daß der Stickstoff die Tumorbildung hemmt. Ähnliche Ver-

suche wurden seither von STROWD (1920), GIÖBEL (1926), HOPKINS, WILSON und PETERSON (1932), HOPKINS und FRED (1933), GEORGI (1935), THORNTON (1936 a), THORNTON und NICOL (1936), THORNTON, RUDORF und JOYCE (1936), GÄUMANN, JAAG und ROTH (1945), DIENER (1950) und vielen anderen Autoren durchgeführt, welche alle diese Beobachtung bestätigen. HOPKINS, WILSON und PETERSON (1932) und WEBER (1930) untersuchten den Einfluß des Nitratstickstoffes bezüglich der Luftstickstoffixierung durch die Knöllchenbakterien und stellten eine Abnahme derselben bei steigenden Nitratmengen fest.

Nach POSCHENRIEDER, SAMMET und FISCHER (1940) stimuliert die Phosphorsäure im Gegensatz zum Stickstoff die Knöllchenproduktion. Analytische Untersuchungen, welche diese Autoren durchführten, ergaben, daß der Gehalt an freier, sowie an gebundener Phosphorsäure in den Knöllchen von Soja- und Pferdebohnen immer größer war als in den entsprechenden Wurzeln. Die Phosphorsäure scheint also wesentlich für die Zellteilung des meristematischen Gewebes verantwortlich zu sein. Es ist demnach nicht erstaunlich, daß reichliche Phosphorsäuredüngung auch die Stickstoffixierung fördert.

Eine Erhöhung der Knöllchenproduktion durch steigende Kalimengen konnte von POSCHENRIEDER, SAMMET und FISCHER (1940) nur dann festgestellt werden, wenn zugleich mit dem Kali auch genügend Phosphorsäure verabreicht wurde. Doch wurden durch hohe Kaligaben die Bakterien in ihrer Fähigkeit, Luftstickstoff zu assimilieren, eher negativ beeinflußt.

Ähnliche Effekte wie mit der Phosphorsäure wurden von ALBRECHT und DAVIS (1929) mit Kalziumkarbonat- und Kalziumchloriddüngung bei Bohnen erzielt. Doch konnte ein fördernder Einfluß auf die Knöllchenproduktion nur in sauer reagierenden Böden mit einem pH von ungefähr 5,5 festgestellt werden. Aus diesen Versuchen geht also nicht eindeutig hervor, ob das Kalziumion als Nährstoff die Reaktionsbereitschaft des Wirtes ändert, oder ob es wegen seiner neutralisierenden Eigenschaft der Wirtspflanze, oder, was auch denkbar ist, dem Erreger zuträglichere Lebensbedingungen verschafft.

Hinsichtlich der Spurenelemente ist bis jetzt allein vom Bor bekannt, daß es die Knöllchenbildung entscheidend beeinflußt. Diesbezügliche Versuche von BRENCHLEY und THORNTON (1925) zeigen, daß die Knöllchenzahl bei Bormangel immer geringer ist als bei Versuchspflanzen, welchen das Bor in genügenden Mengen zugegeben wird. Bei Bormangel scheinen, wie bei ungenügender Insolation, die Abwehrkräfte des Wirtes geschwächt zu sein; denn es gelingt dem Erreger, die Endodermis zu durchbrechen und die zentralen Wurzelpartien zu zerstören.

Die überwiegende Zahl der in diesen Arbeiten beschriebenen Versuche wurde mit Pflanzen im natürlichen Nährsubstrat, dem Erdboden durchgeführt, und es ist deshalb nicht verwunderlich, daß die Ergebnisse der ein-

zelnen Autoren vor allem in quantitativer Hinsicht stark voneinander abweichen. Erstes Erfordernis für eine exakte Abklärung der oben erwähnten Erscheinungen ist ein chemisch bekanntes Nährsubstrat, wie das bei der Knop'schen Nährlösung der Fall ist. GÄUMANN, JAAG und ROTH (1945) gelang es, eine Versuchsmethode zu entwickeln, mit welcher es möglich war, *Pisum sativum* L. auf synthetischer Nährlösung zu ziehen und an den Wurzeln eine reichliche Knöllchenbildung zu erzielen. Diese Methode wurde von DIENER (1950) übernommen und für seine Versuche verwendet. Er gelangte damit zu folgenden Ergebnissen:

1. Er bestätigt die Beobachtung von GÄUMANN, JAAG und ROTH (1945), daß an ein und derselben Erbsenpflanze die eine Wurzelhälfte in stickstoffarmer Nährlösung reichlich Knöllchen bildet, während bei der anderen Hälfte in stickstoffreicher Nährlösung die Knöllchenbildung fast vollständig unterbleibt. Er ist der Ansicht, daß der Stickstoff die Anfälligkeit der Wirtspflanze vermindert, der Infektionsablauf also durch die (relative) Menge der im Substrat vorhandenen Stickstoffverbindungen gesteuert wird.

2. Die Phosphorsäure fördert die Knöllchenbildung. Nur bei genügender Phosphorsäureversorgung der Wirtspflanze kann die Gallreaktion einsetzen. Bei zu geringer Phosphorsäureversorgung bleibt der Infekt latent.

3. Ein gewisser minimaler Kalzium- und Magnesiumgehalt der Nährlösung ist für die Knöllchenbildung notwendig. Die Kalzium- und die Magnesiumionen verschieben die Nährstoffaufnahme der Pflanze und wirken indirekt auf die Knöllchenbildung ein.

4. Kalium- und Sulfationen üben keinen meßbaren Einfluß auf die Knöllchenbildung aus.

5. Bei einer Verminderung der Lichtintensität um 50 % werden ungefähr gleichviel Knöllchen gebildet wie bei voller Lichtintensität. Die Knöllchengröße aber nimmt proportional zur Lichtverminderung ab. Bei stark verminderter Lichtintensität (unter 20 %) unterbleibt die Knöllchenbildung.

6. Von der einen Wurzelhälfte zur anderen findet physiologisch kein Ausgleich der Nährionen statt. Die beiden Wurzelhälften agieren unabhängig voneinander, gleich selbständigen Individuen.

Die Knöllchenbildung an den Wurzeln der Leguminosen ist aber das Produkt zweier verschiedener, nacheinander sich abspielender Vorgänge. Es sind dies erstens die Infektion, die mit dem Eindringen der Bakterien in die Wurzelhaare eingeleitet wird und zweitens die durch Reizwirkungen hervorgerufenen Teilungsvorgänge des Wurzelmeristems. Die Möglichkeit liegt nun nahe, daß die oben erwähnten Umweltsfaktoren diese beiden Teilvorgänge nicht gleichsinnig beeinflussen, oder sich auf den einen oder den anderen vor- oder nachteilig auswirken.

Aus dem Gebiet der Phytopathologie sind uns tatsächlich Fälle bekannt, wo durch ein und denselben Umweltsfaktor die Infektions- und die

Erkrankungsdisposition eines Wirtes gegenüber einem bestimmten Erreger im entgegengesetzten Sinne verschoben werden. Werden gegen den Erreger einer Tomatenwelke, *Fusarium lycopersici* Sacc., widerstandsfähige Tomatensorten bei reichlichen Stickstoffgaben gezogen und wird der Boden mit Konidien des Erregers infiziert, so finden bei 70 % aller Individuen Infektionen statt; bei geringen Stickstoffgaben hingegen nur 10 %. Die Infektionsdisposition wird somit in diesem Fall gefördert. Hingegen verliefen diese Infektionen bei reichlicher Stickstoffernährung alle abortiv, und die Krankheitssymptome gelangten nicht zur Entwicklung, im Gegensatz zu den Pflanzen, welche nur geringe Stickstoffgaben erhielten und wobei 10 % der infizierten Tomatenpflanzen die typischen Welkesymptome zeigten (COOK, 1937).

Es ist nun denkbar, daß auch bei der Knöllchenbildung an Leguminosenwurzeln ähnlich wie im soeben erwähnten Beispiel entgegengesetzt gerichtete Umstimmungen der Infektions- und Erkrankungsdisposition stattfinden, daß zum Beispiel der Stickstoff zwar den Infektionsvorgang zu hemmen vermag, nicht aber die eigentliche Tumorbildung beeinflußt, oder auch umgekehrt.

DIENER (1950) untersuchte unter dem Mikroskop Wurzelhaare von Erbsen, die er auf stickstoffreicher bzw. auf stickstoffarmer Nährlösung gezogen und mit Bakteriensuspension beimpft hatte. Es handelt sich dabei um ähnliche Untersuchungen, wie sie schon von THORNTON (1936) durchgeführt wurden. Während an den Wurzeln der Pflanzen, welche in stickstoffarmer Nährlösung heranwuchsen, sich zahlreiche Infektionsvorgänge abspielten, konnte er an den Parallelen in stickstoffreicher Nährlösung keine nachweisen. Auch konnte er an gefärbten Schnitten keine latenten Infekte feststellen. Er ist aber selbst der Meinung, daß die negative Beobachtung — keine latenten Infekte bei reichlicher Stickstoffernährung — keine endgültige Beweiskraft besitze. Um sicher zu sein, müßte ein viel umfangreicheres Material mit demselben Ergebnis verarbeitet werden. Zwar spricht eine Abnahme der Knöllchenzahl um 96 % in einer Knoplösung mit dem doppelten Stickstoffgehalt gegenüber einer solchen mit nur dem hundertsten Teil der normalen Stickstoffmenge für eine Verminderung der Infektionshäufigkeit durch den Stickstoff. Es ist aber nicht gesagt, daß die Knöllchenzahl der Anzahl erfolgreicher Infektionen gleichgesetzt werden kann. Es ist möglich, daß in stickstoffreicher Nährlösung die Infektionen in üblicher Häufigkeit wohl angehen, daß aber der Stickstoff sich hemmend auf die Gallreaktionen auswirkt, so daß die Knöllchenbildung nicht vor sich geht, die Infekte latent bleiben und makroskopisch nicht erfaßbar sind.

Diese Probleme können nur dann abgeklärt werden, wenn es gelingt, eine Versuchsmethode zu entwickeln, welche es ermöglicht, den Einfluß dieser Umweltsfaktoren einerseits auf den Infektionsvorgang und anderseits auf das Knöllchenwachstum quantitativ abzuklären. Tatsächlich gelang es, für die vorliegenden Untersuchungen eine Methode zu finden, die diesen Anforderungen entspricht.

*

1. Kapitel

Die Kulturmethode

a) Das Impfmaterial

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde Stamm 10 314 von *Rhizobium leguminosarum* Frank verwendet, welcher von der American Type Culture Collection in Washington bezogen wurde. Nach Fred, Baldwin und McCoy (1932) weist er bezüglich des Vermögens, Luftstickstoff zu assimilieren, alle Merkmale eines unwirksamen Stammes auf (poor strain). Die Knöllchenbildung ist reichlich und über das ganze Wurzelwerk hin zerstreut. Das einzelne Knöllchen ist klein, rund und weiß, während ein wirksamer Stamm wenige große und rötlich gefärbte Knöllchen bildet, deren Auftreten sich in nächster Nähe der Hauptwurzel konzentriert. Stickstoffassimilation konnte nie festgestellt werden; denn bei Erbsenpflanzen auf einer Nährlösung mit nur dem hundertsten Teil der normalen Stickstoffmenge konnten zwischen infizierten und nicht infizierten Versuchsreihen grobsinnlich nie Wachstumsunterschiede wahrgenommen werden. Doch ist bei dieser Deutung Vorsicht anzuwenden, da nach Nobbe und Hiltner (1899) auch wirksame Stämme in Wasserkultur keinen Luftstickstoff zu fixieren vermögen.

Um Unregelmäßigkeiten des Impfmaterials, welche auf unterschiedlicher parasitischer Eignung verschiedener Bakterienstämme beruhen könnten, vorzubeugen, wurde nur mit diesem einzigen Stamme gearbeitet (Dunham und Baldwin, 1931). Die Vermehrung der Bakterien geschah in einem Nährmedium folgender Zusammensetzung: KH_2PO_4 0,5 g, $MgSO_4$ 0,2 g, $CaCO_3$ 3,0 g, NaCl 0,2 g, $CaSO_4$ Spur, Mannit 7,5 g, Glucose 2,5 g, Hefeextrakt 100 cc, Leitungswasser 900 cc.

Herstellung des Hefeextraktes: 100 g Bäckerhefe wurden in 1000 cc Leitungswasser aufgeschwemmt und während ungefähr 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen. Diese Aufschwemmung wurde anschließend bei 120° C während 25 Minuten autoklaviert, während drei Tagen im Eisschrank sich absetzen gelassen oder bei sofortigem Gebrauch zentrifugiert.

Für jeden Versuch wurde das Infektionsmaterial von einem festen Agarnährboden gleicher Zusammensetzung frisch abgeimpft. Für die Infektion wurden einwöchige, bei 24° C inkubierte Kulturen verwendet, welche zehnmal mit sterilem Wasser verdünnt in der Menge von 2,5 cc je Liter Knoplösung den Pflanzen zugegeben wurden.

b) Die Versuchstechnik

Als Versuchspflanze wurde die frühe, niedere Erbsensorte „Wunder von Amerika" verwendet. Die Samen wurden während einer halben Stunde in einer 1‰igen Sublimatlösung äußerlich desinfiziert, zwei- bis dreimal mit sterilem Wasser ausgewaschen, während 18—24 Stunden in ebenfalls sterilem Wasser vorgequollen, in einer Infektionskabine auf autoklavierte Erde

ausgelegt und unter hoher Luftfeuchtigkeit während vier bis fünf Tagen keimen gelassen. Während dieser Zeit erreichten die Keimwurzeln eine Länge von 3—5 cm.

Die Versuche selbst wurden zur Hauptsache auf 6 l fassenden, inwendig glasierten Tontöpfen durchgeführt, die mit Knop'scher Nährlösung gefüllt wurden. Auf die Töpfe wurden Drahtgitter gelegt, die in Aluminiumblech eingefaßt waren. Damit die Erbsenkeimlinge nicht durch die Gittermaschen fallen konnten, und um die Wurzeln nicht dem direkten Tageslicht auszusetzen, wurden die Aufsätze mit Sackleinwand ausgelegt, durch diese hindurch kleine Löcher gestochen und die Keimwurzeln durch diese Löcher hindurch in die Nährlösung gesteckt. Töpfe und Aufsätze wurden vor jedem Versuch im Autoklaven keimfrei gemacht.

Neben den Versuchen auf Tongefäßen wurden anfänglich auch solche auf 400 cc fassenden Trinkgläsern durchgeführt. Diese wurden wie bei den Versuchen von DIENER (1950) mit schwarzem Papier umwickelt, um die Algenbildung in der Nährlösung zu hemmen. Das Saatgut wurde auch vorgequollen, nachher aber in sterile Erde ausgesät. Für den Versuch wurden 14 Tage alte Pflanzen verwendet, die, bevor sie beimpft wurden, noch während einer Woche auf der zu prüfenden Nährlösung heranwuchsen, um sich den neuen Umweltsbedingungen anzupassen. Wurzelteilung wurde nie vorgenommen. Diese Art des Vorgehens hat den Vorteil, eine viel genauere Auswahl der Versuchspflanzen vornehmen zu können, als das bei fünf Tage alten Keimlingen möglich ist. Da aber die Tontöpfe in Wassertröge mit konstanter Temperatur gestellt werden konnten, war es auch möglich, die Temperatur der Nährlösung während des ganzen Versuches konstant zu halten (ausführliche Beschreibung dieser Tröge siehe GÄUMANN und RIETHMANN 1938). Dies ist wichtig, da nach JONES und TISDALE (1921) die Temperatur des die Wurzeln umgebenden Substrates die Knöllchenbildung erheblich beeinflußt. Bei den Versuchen auf Trinkgläsern war das aus technischen Gründen nicht möglich, so daß im Sommer zwischen Tag und Nacht die Nährlösung Temperaturschwankungen bis zu 13 ° C aufwies (22—35 ° C). Diese Methode wurde deshalb wieder verlassen und die weiteren Versuche auf Tontöpfen durchgeführt.

c) Die Versuchsanordnung

Die ganze für einen Versuch notwendige Zeitspanne wurde in drei Abschnitte eingeteilt:

Die Vorperiode: Sie dauerte in der Regel 14 Tage. Während dieser Zeit wuchsen die Erbsen auf der zu untersuchenden Nährlösung zu kräftigen 15—20 cm hohen Pflänzchen heran.

Die Infektionsperiode: Sie folgte der Vorperiode und umfaßte die Zeitspanne, während welcher sich Infektionskeime in der Nährlösung befanden. Bei den ersten Versuchen dauerte sie eine Woche, wurde aber später für die Stickstoffversuche auf zwei und für die Versuche mit

Phosphorsäure auf vier Tage herabgesetzt. In Tastversuchen wurde nämlich festgestellt, daß schon während der ersten zwei, resp. vier Tage genügend Infektionen angingen, um gesicherte Ergebnisse zu erhalten. Wurden hingegen die Bakterien während einer ganzen Woche in der Nährlösung gelassen, so begannen sich Infektionsvorgang und Tumorbildung zu überschneiden, und die Ergebnisse konnten nicht mehr eindeutig interpretiert werden.

Die Periode der Tumorbildung: Sie folgte der Infektionsperiode. Während dieser Zeit erfolgte die eigentliche Knöllchenbildung. Sie dauerte ungefähr 14 Tage. Die Nährlösung war während ihrer ganzen Dauer keimfrei, so daß Neuinfektionen ausgeschlossen waren.

Es soll nun an zwei Beispielen gezeigt werden, wie die Versuche im Prinzip durchgeführt wurden. Wenn der Einfluß eines Nährstoffes X auf die Infektionshäufigkeit zu prüfen war, wurde folgendermaßen vorgegangen:

Der Versuch wurde in eine Versuchsreihe 1 und in eine Versuchsreihe 2 eingeteilt. Jede dieser beiden Versuchsreihen erhielt während der Vorperiode eine Nährlösung mit verschiedener Konzentration des Nährstoffes X. Wir nennen diese Konzentrationen X_1 und X_2. Nach 10—14 Tagen wurde die Infektionsperiode durch das Beimpfen beider Reihen mit Bakteriensuspension eingeleitet. Sie dauerte zwei, resp. vier Tage. Dann wurden die Pflanzen samt den Aufsätzen von den Töpfen genommen, die äußerlich an den Wurzeln haftenden Bakterien unter dem fließenden Wasserhahn während fünf Minuten weggespült und wieder auf frisch autoklavierte Töpfe gesetzt. Beide Versuchsreihen erhielten während der nun folgenden Periode der Tumorbildung eine Nährlösung mit der gleichen Konzentration des Nährstoffes X, zum Beispiel X_1.

Da nun während der Vor- und der Infektionsperiode die Wurzeln der beiden Versuchsreihen in Nährlösungen verschiedener Zusammensetzung eintauchten und während der Periode der Tumorbildung keine weiteren Infektionen mehr angehen konnten, kann gesagt werden, daß eventuelle Unterschiede in der Knöllchenproduktion am Ende des Versuches auf einen Einfluß des Nährstoffes X auf die Infektionshäufigkeit zurückzuführen sind, daß also eine Umstimmung der Infektionsdisposition stattgefunden hat.

Gegen diese Methode kann allerdings der Einwand gemacht werden, daß allein das Abspülen der Wurzeln nicht genügt, um ein Hinüberschleppen von Knöllchenbakterien in die frische Nährlösung zu verhindern. Um diesen Einwand zu prüfen, wurde für jede Versuchsreihe eine entsprechende Kontrollreihe angesetzt. Ihre Nährlösung blieb vom Anfang bis zum Ende des Versuches die gleiche wie die der entsprechenden Versuchsreihe. Mit Bakteriensuspension beimpft wurde sie aber jeweils erst am Ende der Infektionsperiode der Versuchsreihen, in dem Zeitpunkt also, da diese auf die frischen Nährlösungen umgestellt wurden. Die Bakterien wurden

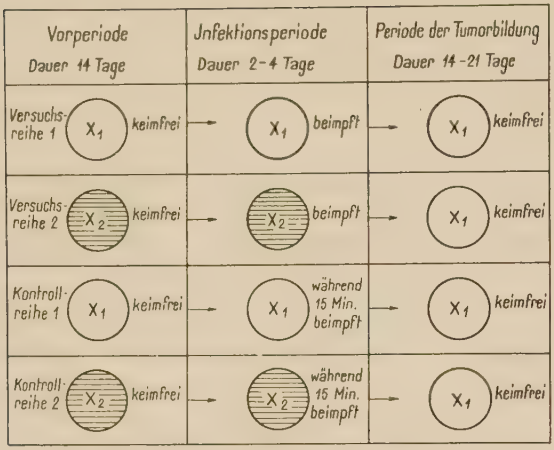


Abb. 1. Schematische Versuchsdarstellung

Der Einfluß eines Nährstoffes X
auf die Infektionshäufigkeit

X_1 = Nährlösung mit der Konzentration X_1 des Nährstoffes X
X_2 = Nährlösung mit der Konzentration X_2 des Nährstoffes X

aber nur während 15 bis 30 Minuten in der Nährlösung gelassen, so daß Infektionen unmöglich stattfinden konnten. Dann wurden die Wurzeln gleich wie bei den Versuchsreihen gründlich abgespült und die Pflanzen auf frische Lösung gesetzt. Auf diese Art und Weise war es einfach, nachträgliche Infektionen festzustellen und sie im Versuch zu berücksichtigen. Bei jedem Versuch wurden auch immer ein paar Töpfe angesetzt, deren Nährlösung überhaupt nie beimpft wurde. Sie dienten der Kontrolle der Fremdinfektionen, hervorgerufen durch Knöllchenbakterien, die sich unter Umständen im Leitungswasser befinden, oder während des Versuches auf irgend eine Art und Weise in die Nährlösung geraten konnten. Zweimal kam es vor, daß die Knöllchenzahl in den Kontrollreihen, gemessen an derjenigen in den Versuchsreihen, 10 % überstieg, so daß diese Versuche wiederholt werden mußten. In der Regel bewegte sie sich aber zwischen 0—8 %. Die Ergebnisse der Kontrollreihen wurden in den Tabellen nicht angeführt, sie dienten lediglich der Kontrolle während des Versuches (vgl. Abb. 1).

Um die Frage nach dem Einfluß eines Nährstoffes auf das Knöllchenwachstum abzuklären, ließ man die beiden Versuchsreihen nicht während der Vor- und der Infektionsperiode, sondern während der Periode der Tumorbildung auf Nährlösungen mit verschiedener Konzentration des Nährstoffes X heranwachsen. Im übrigen wurden die Versuchsreihen gleich wie im vorhergehenden Beispiel behandelt. Ebenfalls wurden die entsprechenden Kontrollreihen angesetzt. Allfällige Unterschiede in der Knöllchenproduktion am Ende des Versuches können demzufolge nur auf einen Einfluß des Nährstoffes X auf das Knöllchenwachstum zurückgeführt werden (Verschiebung der Erkrankungsdisposition des Wirtes, vgl. Abb. 2).

Am Ende eines Versuches wurden die Wurzeln abgeschnitten und in sechsprozentige Formalinlösung eingelegt, weil besonders bei großen Versuchen es nicht möglich war, innerhalb kürzester Zeit das anfallende Material

auszuwerten. Dann wurden die Knöllchen ausgezählt und die Knöllchenzahl je Pflanze bestimmt. Zugleich wurden die Knöllchen abgeschnitten, ihre Masse für jede Wurzel getrennt bei 103 ° C während vier Stunden getrocknet und gewogen. Das Knöllchentrockengewicht je Pflanze, dividiert durch die Knöllchenzahl der betreffenden Pflanze ergab das durchschnittliche Trockengewicht des einzelnen Knöllchens (Einzelknöllchengewicht). Nach Linder (1945) wurde der Mittelwert $\bar{x}$ und die mittlere Streuung s für jede Versuchsreihe berechnet und, wenn notwendig, auch die Sicherheit der Ergebnisse geprüft.

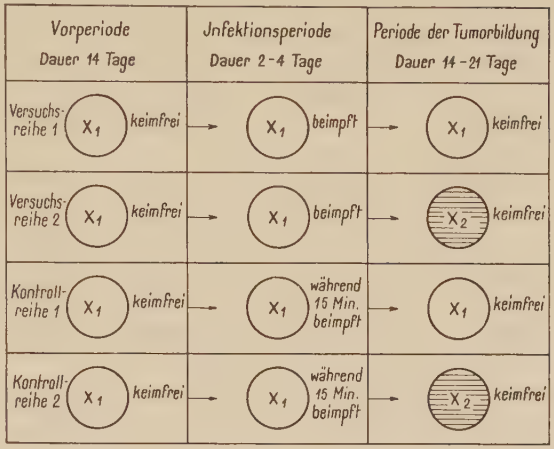


Abb. 2. Schematische Versuchsdarstellung
Der Einfluß eines Nährstoffes X
auf das Knöllchenwachstum
X_1 = Nährlösung mit der Konzentration X_1 des Nährstoffes X
X_2 = Nährlösung mit der Konzentration X_2 des Nährstoffes X

Mit Hilfe der oben angeführten Methode war es nun möglich, den Vorgang der Knöllchenbildung an den Wurzeln von *Pisum sativum* L. in Infektion und Knöllchenwachstum zu trennen und die verschiedenen Nährstoffkomponenten auf diese Teilvorgänge einwirken zu lassen. Ebenfalls war es möglich, ihre Wirkung auf jeden dieser Teilvorgänge quantitativ zu erfassen (Knöllchenzahl je Pflanze, Knöllchengewicht je Pflanze und Einzelknöllchengewicht). In den folgenden Kapiteln soll nun auf die durchgeführten Versuche näher eingegangen werden.

2. Kapitel

Der Einfluß des Stickstoffes auf die Knöllchenproduktion an den Wurzeln von *Pisum sativum* L.

a) Der Einfluß des Stickstoffes auf die Infektionshäufigkeit

Versuch 1

Versuchsfrage: Vermag der Stickstoff die Infektionshäufigkeit zu beeinflussen? Findet durch ihn eine Verschiebung der Infektionsdisposition des Wirtes statt?

Versuchsanordnung: Für alle Stickstoffversuche wurden folgende zwei Nährlösungen verwendet:

	N/100	2 N
$Ca(NO_3)_2$	0,05 g	5,00 g
NH_4NO_3	0,00 g	2,40 g
KH_2PO_4	1,25 g	1,25 g
$MgSO_4$	1,25 g	1,25 g
KCl	1,25 g	1,25 g
$FeCl_3.6H_2O$ 1%	7,5 cc	7,5 cc
Hoagland A—Z	5,0 cc	5,0 cc
Leitungswasser	5000 cc	5000 cc

Der Versuch wurde mit zwei Versuchsreihen von je fünf Töpfen zu 20 Pflanzen angesetzt. Für jede Versuchsreihe wurde je eine entsprechende Kontrollreihe in den Versuch mit einbezogen.

Versuchsreihe 1 erhielt zu Beginn des Versuches N/100-Lösung, während die Pflanzen der Versuchsreihe 2 auf 2N-Lösung heranwuchsen. Nach einer Infektionsperiode von 2 Tagen wurden die Bakterien aus den Töpfen entfernt und beide Versuchsreihen mit N/100-Lösung versehen (vgl. Abb. 1). Nach weiteren 16 Tagen wurde der Versuch abgebrochen.

Ergebnisse: Siehe Tabelle 1.

Tabelle 1

Der Einfluß des Stickstoffes auf die Infektionshäufigkeit

Nährlösung	Knöllchenzahl je Pflanze	Knöllchengewicht je Pflanze in mg	Einzelknöllchengewicht in mg
Versuchsreihe 1 Infektion auf N/100 Tumorbildung auf N/100	126,6 ± 37,0	8,82 ± 2,73	0,065 ± 0,001
Versuchsreihe 2 Infektion auf 2N Tumorbildung auf N/100	78,6 ± 14,4	6,54 ± 1,90	0,086 ± 0,005

Diskussion der Ergebnisse: Die Zahlen in Tabelle 1 sprechen ohne Zweifel für eine Verminderung der Infektionshäufigkeit durch den Stickstoff. Daß es sich hier nicht wie später in Versuch 3 um eine Abnahme der Knöllchenzahl, bedingt durch eine Beeinträchtigung des Knöllchenwachstums handelt, sondern um eine Umstimmung der Infektionsdisposition des Wirtes, geht aus der Versuchsanordnung hervor. Doch sind die Unterschiede hier nicht so groß, wie das beim Knöllchenwachstum in Versuch 4 der Fall ist. Während die 2N-Lösung das Knöllchenwachstum vollständig unterbindet, wird die Infektionshäufigkeit in diesem Beispiel nur um ungefähr 38 % herabgesetzt. Auffallend ist das höhere Einzelknöllchengewicht der Versuchsreihe 2 (0,086 mg) gegenüber demjenigen in Versuchsreihe 1 (0,065 mg). Diese Erscheinung ist darauf zurückzuführen, daß die Pflanze unter gleichen äußeren Bedingungen (bei beiden Reihen erfolgte die Tumorbildung auf N/100-Lösung), der ihr in beschränktem Maße zur Verfügung stehenden Assimilate wegen, bei geringer Infektionshäufigkeit, größere Energiemengen für die Bildung

des einzelnen Knöllchens aufbringen kann, als ihr das bei einer Vielzahl von Infektionen möglich ist.

Versuch 2

Versuchsfrage: Ist es möglich, durch steigende Stickstoffmengen die Infektionen vollständig zu unterbinden, ohne daß dabei der Wirt erhebliche ernährungsphysiologische Störungen erleidet?

Versuchsanordnung: Für diesen Versuch wurden folgende Nährlösungen verwendet:

	N/100	1N	2N	4N	8N	16N	32N
$Ca(NO_3)_2$	0,05 g	5,00 g	5,00 g	5,00 g	5,00 g	5,00 g	5,00 g
NH_4NO_3	0,00 g	0,00 g	2,40 g	7,20 g	16,80 g	36,00 g	74,40 g
KH_2PO_4	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g
$MgSO_4$	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g
KCl	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g	1,25 g
$FeCl_3.6H_2O$ 1%	7,5 cc	7,5 cc	7,5 cc	7,5 cc	7,5 cc	7,5 cc	7,5 cc
Hoagland A—Z	5,0 cc	5,0 cc	5,0 cc	5,0 cc	5,0 cc	5,0 cc	5,0 cc
Leitungswasser .	5000 cc	5000 cc	5000 cc	5000 cc	5000 cc	5000 cc	5000 cc

Der Versuch wurde mit insgesamt 50 Töpfen zu je 20 Pflanzen angesetzt. Während der Vorperiode wuchsen die Pflanzen von je fünf Töpfen auf einer der oben angeführten Lösungen heran. Die restlichen 15 Töpfe wurden für die Kontrolle verwendet. Vor der Infektionsperiode, welche wiederum 2 Tage dauerte, wurden von jeder Stickstoffreihe 40 Pflanzen genommen, um das durchschnittliche Trockengewicht der Seitenwurzeln und der oberirdischen Teile zu bestimmen (siehe Tabelle 2). Dann wurden die Wurzeln abgespült, alle Töpfe autoklaviert und mit N/100-Lösung angefüllt. Nach weiteren 14 Tagen wurde der Versuch abgebrochen.

Ergebnisse: Siehe Tabelle 2.

Tabelle 2

Der Einfluß steigender Stickstoffmengen auf die Infektionshäufigkeit

Nährlösung	Trockengewicht der Seitenwurzeln je Pflanze in mg	Trockengewicht von Sproß und Blättern je Pflanze in mg	Knöllchenzahl je Pflanze		Knöllchengewicht je Pflanze in mg		Einzelknöllchengewicht in mg
			absolut	bezogen auf mg Trockengewicht der Seitenwurzeln	absolut	bezogen auf mg Trockengewicht der Seitenwurzeln	
N/100	15,43	62,29	125,4 ± 27,7	8,1	8,80 ± 3,31	0,57	0,070 ± 0,013
1N	14,71	65,85	94,5 ± 22,5	6,4	7,48 ± 2,21	0,50	0,073 ± 0,012
2N	12,42	51,52	71,5 ± 16,7	5,8	5,60 ± 1,50	0,45	0,075 ± 0,011
4N	9,89	49,25	41,0 ± 13,4	4,1	2,60 ± 1,40	0,25	0,066 ± 0,014
8N	5,25	47,55	0	0	0	0	0
16N	2,73*	38,73	0	0	0	0	0
32N	0 **	0	0	0	0	0	0

*) Am Ende des Versuches die Hälfte der Pflanzen abgestorben.
**) Nach 8 Tagen alle Pflanzen abgestorben.

Diskussion der Ergebnisse: Mit steigender Stickstoffkonzentration der Nährlösung nimmt die Infektionshäufigkeit ab. Verglichen mit der Infektionshäufigkeit bei der N/100-Reihe gingen bei der 4N-Reihe nur noch 33 % und bei der 8N-Reihe überhaupt keine Infektionen mehr an. Die Tatsache der Abnahme um 43 % bei der 2N-Reihe stimmt mit den Ergebnissen von Versuch 1 (38 %) recht gut überein.

Berücksichtigt man aber auch das Wachstum der Wirtspflanze, so sieht man, daß mit steigender Stickstoffkonzentration der Nährlösung das Trokkengewicht der Seitenwurzeln ebenfalls stark abnimmt. Es ist demnach von vornherein klar, daß schon allein diese Tatsache die Infektionsmöglichkeiten erheblich herabsetzt. Um die Knöllchenproduktion der einzelnen Versuchsreihen miteinander vergleichen zu können, ist es notwendig, sie auf eine einheitliche Basis zu beziehen, in unserem Falle auf mg Trockengewicht der Seitenwurzelmasse je Pflanze. Die Hauptwurzeln wurden nicht berücksichtigt, da an ihnen, ausgenommen zuunterst an der Spitze, nie Knöllchenbildung beobachtet werden konnte. Aber auch die so berechneten relativen Werte für Knöllchenzahl je Pflanze und Knöllchengewicht je Pflanze nehmen mit steigender Stickstoffkonzentration der Nährlösung ständig ab, wenn auch prozentual etwas weniger rasch, als das bei den absoluten Werten der Fall ist.

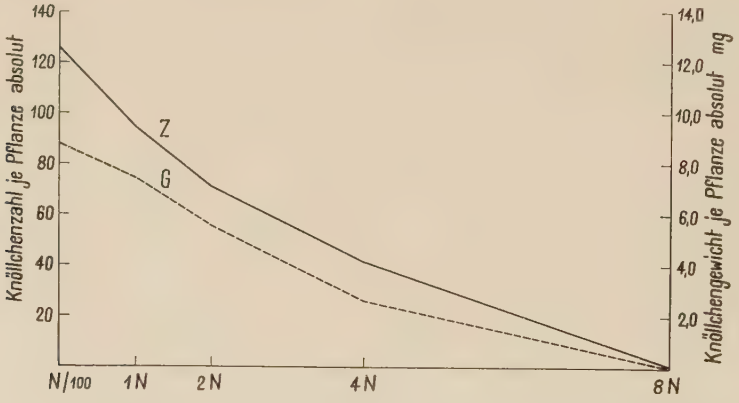


Abb. 3.
Der Einfluß steigender Stickstoffmengen auf die Infektionshäufigkeit
Abszisse: Stickstoffkonzentration der Nährlösung
Ordinate links: Knöllchenzahl je Pflanze (Kurve Z)
Ordinate rechts: Knöllchengewicht je Pflanze (Kurve G)

In diesem Versuch wurde aber nicht nur das Wurzelwachstum, sondern auch gleichzeitig das Wachstum der oberirdischen Pflanzenteile durch den Stickstoff gehemmt. Die zur Assimilation befähigte Pflanzenoberfläche wurde demnach verkleinert, was im Effekt einer Herabsetzung der einfallenden Lichtintensität gleichkommt.

In Anbetracht dieses Zusammenwirkens verschiedener Umweltsfaktoren, können an Hand dieses Versuches in quantitativer Hinsicht keine

eindeutigen Schlüsse gezogen werden. Vor allem ist es nicht möglich, genau die Stickstoffkonzentration der Nährlösung zu bestimmen, bei welcher eine totale Hemmung der Infektionen eintritt. In qualitativer Hinsicht jedoch ist der Fall klar. Die Ergebnisse von Versuch 1 werden bestätigt. Je größer die Stickstoffkonzentration der Nährlösung ist, um so geringer ist die Infektionsanfälligkeit und um so kleiner die Knöllchenzahl.

b) Der Einfluß des Stickstoffes auf das Knöllchenwachstum

Versuch 3

Versuchsfrage: Welchen Einfluß hat die Stickstoffernährung auf das Knöllchenwachstum?

Versuchsanordnung: Dieser Versuch wurde auf 400 cc fassenden Trinkgläsern durchgeführt. Er wurde mit zwei Versuchsreihen von je 48 Pflanzen und mit zwei entsprechenden Kontrollreihen von je 36 Pflanzen angesetzt. Die Pflanzen wiesen zu Beginn des Versuches ein Alter von 14 Tagen auf.

Während der Vorperiode wurden die Gläser sämtlicher vier Reihen mit N/100-Lösung angefüllt. Dann wurden die beiden Versuchsreihen beimpft. Die Infektionsperiode dauerte eine Woche. Dann wurden die Gläser und die Wurzeln gründlich abgespült und die Versuchsreihe 2 mit 2N-Lösung versehen, während bei der Versuchsreile 1 die N/100-Lösung beibehalten wurde. Nach weiteren 14 Tagen (Periode der Tumorbildung) wurde der Versuch abgebrochen und ausgewertet (vgl. Abb. 2).

Ergebnisse: Siehe Tabelle 3.

Tabelle 3
Der Einfluß des Stickstoffes auf das Knöllchenwachstum

Nährlösung	Knöllchenzahl je Pflanze	Knöllchengewicht je Pflanze in mg	Einzelknöllchengewicht in mg
Versuchsreihe 1 **Infektion auf N/100** **Tumorbildung auf N/100**	275,0 ± 84,6	29,02 ± 3,96	0,100 ± 0,043
Versuchsreihe 2 **Infektion auf N/100** **Tumorbildung auf 2N**	61,2 ± 36,1	3,67 ± 0,26	0,055 ± 0,012

Diskussion der Ergebnisse: Aus Tabelle 3 geht eindeutig hervor, daß der Stickstoff das Knöllchenwachstum hemmt. Das Einzelknöllchengewicht von Versuchsreihe 2 beträgt nur die Hälfte und das Knöllchengewicht je Pflanze nur den achten Teil desjenigen der Versuchsreihe 1. Dasselbe gilt aber auch für die Knöllchenzahl je Pflanze. Sie ist bei der Versuchsreihe 2 viermal kleiner als bei Versuchsreihe 1. Diese

Verminderung der Knöllchenzahl kann aber nicht mit einer geringeren Infektionshäufigkeit bei Versuchsreihe 2 erklärt werden, da ja die Infektionsbedingungen bei beiden Reihen dieselben waren. Vielmehr muß angenommen werden, daß durch den hohen Stickstoffgehalt der Nährlösung während der Periode der Tumorbildung das Wachstum der Knöllchen von Versuchsreihe 2 so stark gehemmt wurde, daß dreiviertel der erfolgten Infektionen nicht zu Knöllchen auswuchsen, sondern latent blieben. Das nur halb so große Einzelknöllchengewicht bei Versuchsreihe 2 spricht für diese Annahme. Die Knöllchenzahl ist also kein sicheres Kriterium für die Häufigkeit erfolgter Infektionen.

Versuch 4

Versuchsfrage: Wie gestaltet sich das Knöllchenwachstum, wenn das Umstellen der Pflanzen von N/100- auf 2N-Lösung zeitlich gestaffelt erfolgt?

Versuchsanordnung (vgl. Abb. 4). Dieser Versuch wurde mit 40 Töpfen zu je 20 Pflanzen durchgeführt. 28 Pflanzen bildeten die Versuchsreihe 1 und vier Töpfe die Versuchsreihe 2. Die restlichen acht wurden als Kontrollen verwendet (in Abb. 4 nicht angeführt). Die 28 Töpfe der Versuchsreihe 1 wurden zu sieben Versuchsgruppen von je 4 Töpfen zusammengefaßt. Alle Töpfe erhielten während der Vorperiode wieder N/100-Lösung. Die Infektionsperiode dauerte 2 Tage. Dann wurden die Töpfe gewechselt und die Wurzeln nach der üblichen Methode keimfrei gemacht. Während der ersten sechs Tage wurde nun in Abständen von je 48 Stunden und nachher in solchen von 96 Stunden sukzessive je eine Versuchsgruppe der Versuchsreihe 1 mit 2N-Lösung versehen, während in den vier Töpfen der Versuchsreihe 2 während der ganzen Dauer des Versuches die N/100 - Lösung beibehalten wurde. Das Wechseln der

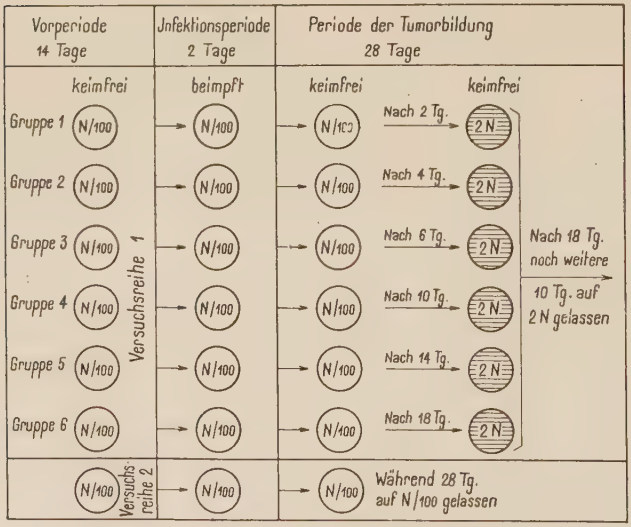


Abb. 4. Schematische Versuchsdarstellung
Der Einfluß des Stickstoffes auf das Knöllchenwachstum bei zeitlich gestaffeltem Umstellen der Pflanzen von N/100- auf 2N-Lösung

Nährlösung in den genannten Zeitabständen war bei den 28 Töpfen nach 18 Tagen beendet. Von diesem Zeitpunkt an wuchsen die Erbsenpflanzen noch während 10 Tagen auf den entsprechenden Nährlösungen weiter. Dann wurde der Versuch abgebrochen und ausgewertet.

Ergebnisse: Siehe Tabelle 4.

Tabelle 4

Der Einfluß des Stickstoffes auf das Knöllchenwachstum bei zeitlich gestaffeltem Umstellen der Pflanzen von N/(N/100)100- auf 2N-Lösung

Anzahl der Tage nach welchen die Lösung bei den einzelnen Versuchsgruppen gewechselt wurde	Knöllchenzahl je Pflanze	Knöllchengewicht je Pflanze in mg	Einzelknöllchengewicht in mg
Versuchsreihe 1			
1	0	0	0
2	0	0	0
4	0	0	0
6	10,0	0,29	0,029
10	27,5 ± 7,2	1,12 ± 0,63	0,035 ± 0,004
14	73,4 ± 17,6	3,50 ± 1,18	0,045 ± 0,008
18	114,0 ± 30,5	7,90 ± 2,70	0,072 ± 0,010
Versuchsreihe 2	117,4 ± 24,5	7,30 ± 2,07	0,062 ± 0,012

Diskussion der Ergebnisse: Aus den Zahlen in Tabelle 4 geht ganz eindeutig hervor, daß die 2N-Lösung das Knöllchenwachstum rasch unterbindet. Diese Tatsache tritt sowohl beim Einzelknöllchengewicht, beim Knöllchengewicht je Pflanze, als auch bei der Knöllchenzahl augenfällig in Erscheinung. Je später die Pflanzen der Versuchsreihe 1 mit 2N-Lösung versehen wurden, um so mehr Knöllchen konnten gebildet werden, und um so größer ist das Einzelknöllchengewicht. Dieser Versuch zeigt auch wiederum recht deutlich, daß die Knöllchenzahl nicht der Anzahl erfolgreicher Infektionen gleichgesetzt werden kann. Sie ist kein zuverlässiges Maß für die Infektionsdisposition des Wirtes.

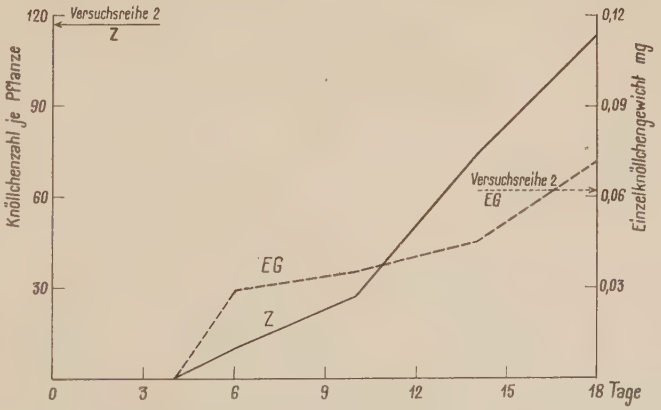


Abb. 5. Der Einfluß des Stickstoffes auf das Knöllchenwachstum bei zeitlich gestaffeltem Umstellen der Pflanzen von N/100- auf 2N-Lösung

Abszisse: Anzahl der Tage, nach welchen die Lösung gewechselt wurde
Ordinate links: Knöllchenzahl je Pflanze (Kurve Z)
Ordinate rechts: Einzelknöllchengewicht (Kurve EG)

3. Kapitel

Der Einfluß der Phosphorsäure auf die Knöllchenproduktion an den Wurzeln von *Pisum sativum* L.

Analog zu den Stickstoffversuchen soll in diesem Kapitel der Einfluß der Phosphorsäure einerseits auf die Infektionshäufigkeit und anderseits auf das Knöllchenwachstum untersucht werden. Für alle Phosphorsäureversuche wurden folgende zwei Nährlösungen verwendet:

	P/100	2 P
$Ca(NO_3)_2$	5,00 g	5,00 g
KH_2PO_4	0,05 g	2,50 g
$MgSO_4$	1,25 g	1,25 g
KCl	1,98 g	0,61 g
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 1%	7,5 cc	7,5 cc
Hoagland A—Z	5,0 cc	5,0 cc
Leitungswasser	5000 cc	5000 cc

a) Der Einfluß der Phosphorsäure auf die Infektionshäufigkeit

Versuch 5

Versuchsfrage: Welchen Einfluß hat die Phosphorsäure auf die Infektionshäufigkeit?

Versuchsanordnung: Dieser Versuch umfaßte 20 Töpfe zu je 20 Pflanzen. Fünf Töpfe bildeten die Versuchsreihe 1, fünf Töpfe die Versuchsreihe 2 und mit den übrigen zehn Töpfen wurden die Kontrollreihen angesetzt. Während der Vorperiode erhielten die Pflanzen der Versuchsreihe 1 2P-Lösung, während diejenigen der Versuchsreihe 2 auf P/100-Lösung heranwuchsen. Nach 14 Tagen wurden beide Reihen beimpft. Die Infektionsperiode dauerte 4 Tage. Die Pflanzen beider Reihen wuchsen sodann auf keimfreier 2P-Lösung weiter. Nach weiteren 17 Tagen wurde der Versuch abgebrochen und nach der üblichen Methode ausgewertet.

Ergebnisse: Siehe Tabelle 5.

Tabelle 5

Der Einfluß der Phosphorsäure auf die Infektionshäufigkeit

Nährlösung	Knöllchenzahl je Pflanze	Knöllchengewicht je Pflanze in mg	Einzelknöllchengewicht in mg
Versuchsreihe 1 Infektion auf 2P Tumorbildung auf 2P	93,1 ± 19,1	8,63 ± 2,42	0,090 ± 0,010
Versuchsreihe 2 Infektion auf P/100 Tumorbildung auf 2P	87,7 ± 24,0	9,55 ± 2,85	0,101 ± 0,006

Diskussion der Ergebnisse: Die Annahme von Diener (1950), daß der Phosphorsäuregehalt der Nährlösung die Infektionshäufigkeit nicht beeinflusse, hat sich als richtig erwiesen. An Hand der Zahlen in Tabelle 5 können zwischen den beiden Versuchsreihen keine wesentlichen Unterschiede der Knöllchenproduktion ersehen werden. Es ist somit anzunehmen, daß sich der Einfluß des Phosphorsäuregehaltes der Nährlösung nur auf das Knöllchenwachstum erstreckt, was in den nächsten drei Versuchen näher geprüft werden soll.

b) Der Einfluß der Phosphorsäure auf das Knöllchenwachstum

Versuch 6

Versuchsfrage: Welchen Einfluß hat die Phosphorsäure auf das Wachstum der Wurzelknöllchen?

Versuchsanordnung: Dieser Versuch wurde mit 16 Töpfen zu je 20 Pflanzen angesetzt. Vier Töpfe bildeten die Versuchsreihe 1, vier Töpfe die Versuchsreihe 2 und je vier Töpfe die entsprechenden Kontrollreihen. Die Pflanzen sämtlicher Töpfe wuchsen während der Vorperiode auf P/100-Lösung, um dann mit Bakteriensuspension beimpft zu werden. Die Infektionsperiode dauerte vier Tage. Während der Periode der Tumorbildung erhielten die Pflanzen der Versuchsreihe 1 2P-Lösung, während diejenigen der Versuchsreihe 2 auf P/100-Lösung weiterwuchsen. Nach 16 Tagen wurde der Versuch abgebrochen (vgl. Abb. 2).

Ergebnisse: Siehe Tabelle 6.

Tabelle 6
Der Einfluß der Phosphorsäure auf das Knöllchenwachstum

Nährlösung	Knöllchenzahl je Pflanze	Knöllchengewicht je Pflanze in mg	Einzelknöllchengewicht in mg
Versuchsreihe 1 Infektion auf P/100 Tumorbildung auf 2P	52,4 ± 23,3	3,00 ± 0,85	0,047 ± 0,009
Versuchsreihe 2 Infektion auf P/100 Tumorbildung auf P/100	2,9	0,11	0,039

Diskussion der Ergebnisse: Dieser Versuch zeigt deutlich, daß die Phosphorsäure die Knöllchenentwicklung stimuliert. Geringere Infektionshäufigkeit kann nicht die Ursache der kleinen Knöllchenzahl bei Versuchsreihe 2 sein, da sich ja der Infektionsverlauf bei beiden Reihen in derselben Nährlösung abspielte. Die Wirkung der Phosphorsäure unterscheidet sich demnach in zweierlei Hinsicht von derjenigen des Stickstoffes:

1. Während der Stickstoff das Knöllchenwachstum hemmt, wird es durch die Phosphorsäure gefördert.

2. Der Stickstoff hemmt sowohl das Knöllchenwachstum, als auch die Infektionshäufigkeit. Die Wirkung der Phosphorsäure hingegen erstreckt sich nur auf das Wachstum der Tumore.

Versuch 7

Versuchsfrage: Wie verhält sich das Knöllchenwachstum, wenn die Erbsen zeitlich gestaffelt von P/100- auf 2P-Lösung umgestellt werden?

Versuchsanordnung: Dieser Versuch wurde mit 30 Töpfen zu je 20 Pflanzen angesetzt. 24 Töpfe wurden für die Versuchsreihe verwendet und sechs für die Kontrollen. Die 24 Töpfe der Versuchsreihe wurden analog zum Stickstoffversuch (Seite 390) in sechs Versuchsgruppen zu je vier Töpfen zusammengefaßt. Alle Töpfe enthielten während der Vorperiode und der Infektionsperiode, welche vier Tage dauerte, P/100-Lösung. Dann wurden die Bakterien nach der üblichen Methode aus den Töpfen entfernt und die Pflanzen der ersten Versuchsgruppe mit 2P-Lösung versehen. Bei den übrigen Versuchsgruppen erfolgte das Wechseln der Lösung in Abständen von je vier Tagen. Nach 24 Tagen wurde der Versuch abgebrochen und ausgewertet.

Ergebnisse: Siehe Tabelle 7.

Tabelle 7

Der Einfluß der Phosphorsäure auf das Knöllchenwachstum, bei zeitlich gestaffeltem Umstellen der Pflanzen von P/100- auf 2P-Lösung

Anzahl der Tage nach welchen die Lösung bei den einzelnen Versuchsgruppen gewechselt wurde	Knöllchenzahl je Pflanze	Knöllchengewicht je Pflanze in mg	Einzelknöllchengewicht in mg
0	74,6 ± 18,0	4,86 ± 1,74	0,066 ± 0,012
4	40,3 ± 18,2	2,70 ± 1,00	0,075 ± 0,015
8	19,0 ± 4,2	1,35 ± 0,32	0,060 ± 0,010
12	12,5 ± 4,5	1,04 ± 0,40	0,088 ± 0,009
16	5,5 ± 1,2	0,37 ± 0,03	0,067 ± 0,012
20	1,8	0,20	0,053

Diskussion der Ergebnisse: Die Zahlen von Tabelle 7 bestätigen die Ergebnisse von Versuch 6. Je früher die Pflanzen auf 2P-Lösung umgestellt wurden, um so früher konnte das Knöllchenwachstum einsetzen, um so größer ist folglich die Knöllchenzahl und das Knöllchengewicht je Pflanze. Nicht eindeutig beeinflußt wurde hingegen das Einzelknöllchengewicht, welches bei den einzelnen Versuchsgruppen unregelmäßige Schwankungen aufweist.

Es ist aber auch denkbar, daß die geringere Knöllchenproduktion in der P/100-Lösung nicht nur auf einen Mangel an Phosphorsäure, sondern auch

auf den relativ höheren Stickstoffgehalt der P/100- gegenüber der 2P-Lösung zurückzuführen ist. In der 2P-Lösung beträgt der Anteil des Stickstoffes gemessen an der Gesamtsalzkonzentration ca. 9 % gegenüber ca. 12 % in der P/100-Lösung. Auf diese Frage soll im nächsten Versuch näher eingegangen werden.

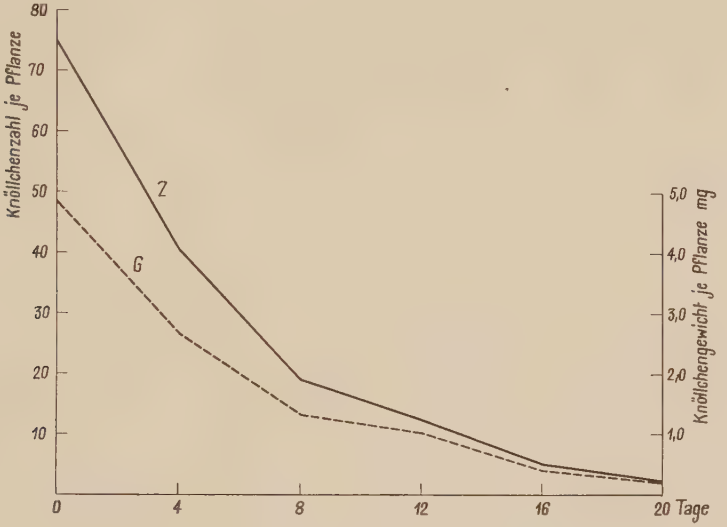


Abb. 6. Der Einfluß der Phosphorsäure auf das Knöllchenwachstum, bei zeitlich gestaffeltem Umstellen der Pflanzen von P/100- auf 2P-Lösung

Abszisse: Anzahl der Tage, nach welchen die Lösung gewechselt wurde
Ordinate links: Knöllchenzahl je Pflanze (Kurve Z)
Ordinate rechts: Knöllchengewicht je Pflanze (Kurve G)

Versuch 8

Versuchsfrage: Wie gestaltet sich das Knöllchenwachstum bei unterschiedlicher Konzentration der Nährlösung an Phosphorsäure, wenn während der Vorperiode die Pflanzen anstatt auf P/100- auf 2P-Lösung heranwachsen?

Versuchsanordnung: Der Versuch wurde auf 400 cc fassenden Trinkgläsern durchgeführt. Er bestand aus einer Versuchsreihe 1 und einer Versuchsreihe 2 von je 48 Pflanzen, sowie aus zwei, den Versuchsreihen entsprechenden Kontrollreihen von je 36 Pflanzen. Während der Vorperiode wuchsen die Pflanzen beider Reihen auf 2P-Lösung heran. Die Infektionsperiode dauerte vier Tage. Dann erhielt Versuchsreihe 2 P/100-Lösung, während bei Versuchsreihe 1 die 2P-Lösung beibehalten wurde. Nach weiteren 17 Tagen wurde der Versuch abgebrochen.

Ergebnisse: Siehe Tabelle 8.

Tabelle 8

Der Einfluß der Phosphorsäure auf das Knöllchenwachstum, wenn während der Vorperiode die Pflanzen anstatt auf P/100- auf 2P-Lösung heranwachsen

Nährlösung	Knöllchenzahl je Pflanze	Knöllchengewicht je Pflanze in mg	Einzelknöllchengewicht in mg
Versuchsreihe 1 Infektion auf 2P Tumorbildung auf 2P	88,2 ± 37,7	10,40	0,118 ± 0,045
Versuchsreihe 2 Infektion auf 2P Tumorbildung auf P/100	87,9 ± 29,7	9,20	0,105 ± 0,052

Diskussion der Ergebnisse: Auf Grund der in Tabelle 8 erhaltenen Zahlen können zwischen den beiden Versuchsreihen keine Unterschiede festgestellt werden. Diese Tatsache erlaubt folgende zwei Interpretationen:

1. Die Pflanzen der Versuchsreihe 2 konnten während der Vor- und der Infektionsperiode genügend Phosphorsäure aufnehmen, um davon während der Periode der Tumorbildung auch auf P/100-Lösung die für das Knöllchenwachstum notwendige Menge zur Verfügung zu haben.

2. Eine relative Steigerung der Stickstoffkonzentration um ca. 3 % übt keinen spürbar hemmenden Einfluß auf das Knöllchenwachstum aus.

4. Kapitel

Der Einfluß der Temperatur der Nährlösung auf die Knöllchenproduktion an den Wurzeln von *Pisum sativum* L.

Bei den Versuchen, welche anfänglich auf 400 cc fassenden Trinkgläsern durchgeführt wurden (vgl. Seite 382), konnte die Beobachtung gemacht werden, daß während der heißen Sommermonate auch auf N/100-Lösung die Knöllchenbildung nur spärlich oder überhaupt nicht vor sich ging. Da es technisch nicht möglich war, die Nährlösung in den Gläsern zu kühlen, stieg ihre Temperatur in Extremfällen bis zu 35 ° C an. Die Vermutung lag deshalb nahe, daß hohe Temperaturen die Knöllchenbildung nachteilig beeinflussen. Ein Tastversuch bestätigte die Richtigkeit dieser Annahme. Sechs Versuchsgruppen von je vier Töpfen wurden in Tröge mit unterschiedlicher Wassertemperatur gestellt und sogleich mit Bakteriensuspension beimpft. Die Bakterien wurden während der ganzen Dauer des Versuches in der Nährlösung gelassen. Nach fünf Wochen wurde der Versuch abgebrochen und das anfallende Knöllchenmaterial nach der üblichen Methode ausgewertet.

Die höchste Knöllchenzahl (210 ± 64,7) und das höchste Knöllchengewicht je Pflanze (21,42 mg) wurden bei Temperaturen zwischen 20 ° und

24 ° C produziert. Aus diesem Grunde wurden alle späteren Versuche bei ungefähr 20 ° C durchgeführt. Die Lufttemperatur wurde nicht berücksichtigt. Bei 7 ° C wurden nur noch 115 ± 41,1 Knöllchen mit einem Knöllchengewicht je Pflanze von 7,56 mg gebildet. Bei Temperaturen um 32 ° C herum fand überhaupt keine Knöllchenbildung statt.

Diese Ergebnisse stimmen mit denjenigen von Jones und Tisdale (1921), welche in sandiger Lehmerde durchgeführt wurden, nicht überein. Die beiden Autoren geben als Optimaltemperatur für die Knöllchenbildung (höchste Knöllchenzahl) bei Erbsen 27—30 ° C an. Es ist aber zu bezweifeln, ob diese Angaben der Wirklichkeit entsprechen, da nach Gangulee (1926 c) und vielen anderen Autoren das Wachstumsoptimum der Knöllchenbakterien um 24 ° C herum liegt und nach eigenen Beobachtungen die Erbsen bei eher kühlen Temperaturen von ungefähr 20 ° C am besten gedeihen. Es ist z. B. äußerst schwierig, Erbsenkeimlinge bei 32 ° C großzuziehen; sie zeigen unter diesen Verhältnissen ein äußerst schlechtes Wachstum. Es wurde deshalb als notwendig erachtet, diese Versuche zu wiederholen, um wie bei den Versuchen mit Stickstoff und Phosphorsäure den Temperatureinfluß einerseits auf die Infektionshäufigkeit und andererseits auf das Knöllchenwachstum zu untersuchen. Doch liegen die Verhältnisse hier viel komplizierter, als das bei den Nährstoffversuchen der Fall war.

Nach Müller und Stapp (1925) begünstigt KNO_3 in einer Konzentration von 0,2 % (0,27 g N je Liter) das Bakterienwachstum. Hingegen vermochte in Versuch 4 die 2N-Lösung (0,32 g N je Liter) das Knöllchenwachstum vollständig zu unterdrücken. Der Einfluß des Stickstoffes erstreckt sich somit nicht auf das Bakterienwachstum und auf das Infektionsvermögen der Bakterien (Wilson, 1917), sondern ausschließlich auf die Reaktionsbereitschaft des Wirtes. Das Kräftegleichgewicht wird hier nicht von der Seite des Erregers, sondern allein von der Seite des Wirtes her verschoben. Dasselbe kann, gestützt auf die Untersuchungen von Poschenrieder, Sammet und Fischer (1940) (vgl. Seite 378), von der Phosphorsäure angenommen werden. Aus diesem Grunde konnte im 2. und 3. Kapitel eine Umstimmung der Aggressivität und Pathogenität des Erregers unberücksichtigt gelassen und bei der Interpretation der Ergebnisse allein auf Dispositionsverschiebungen des Wirtes abgestellt werden.

Diese Vereinfachung ist aber bei den Temperaturversuchen nicht erlaubt; vielmehr muß das Verhalten des Erregers mitberücksichtigt werden. So kann einerseits eine verschieden große Infektionshäufigkeit nicht nur von der Seite des Wirtes herrühren, bedingt durch ein unterschiedliches Wachstum des Wurzelwerkes (Wurzelmasse, Anzahl der Wurzelhaare) und durch temperaturbedingte Veränderungen der antiinfektionellen Abwehrreaktionen, sondern auch von der Seite des Erregers her durch Umstimmung seiner Aggressivität. Anderseits ist es sehr wahrscheinlich, daß das Knöllchenwachstum nicht nur von der Teilungsgeschwindigkeit der Meristemzellen abhängt, sondern auch von derjenigen der Knöllchen-

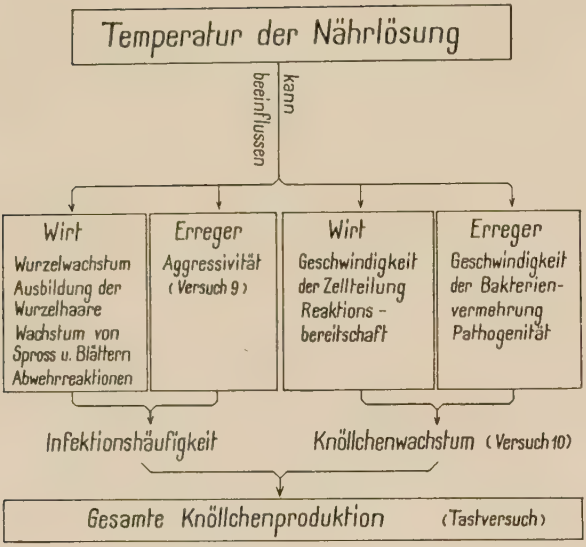


Abb. 7. Schematische Gliederung
Der Einfluß der Temperatur der Nährlösung
auf die Knöllchenproduktion

bakterien, von zwei Vorgängen also, welche sehr temperaturbedingt sind (vgl. Abbildung 7).

Die Aufgabe besteht jetzt darin, den Einfluß der Temperatur auf jeden dieser Faktoren zu prüfen, eine Maßnahme, welche in technischer und methodischer Hinsicht wenigstens teilweise durchführbar ist. Wegen Zeitmangels konnten zwar nur noch zwei Versuche durchgeführt werden, doch soll für die übrigen die Versuchsanordnung kurz beschrieben werden.

§ 1. Der Einfluß der Temperatur der Nährlösung auf die Infektionshäufigkeit

a) Der Einfluß auf das Verhalten des Erregers

Versuch 9

Versuchsfrage: Inwieweit beruht der Temperatureffekt von Seite 396 auf einer Umstimmung des Infektionsvermögens des Erregers?

Versuchsanordnung: Dieser Versuch gelangte mit einer Versuchsreihe von 32 Töpfen und einer Kontrollreihe von 16 Töpfen zur Durchführung. Für alle Temperaturversuche wurde die N/100-Lösung verwendet. Nachdem die Pflanzen während 14 Tagen bei einer Temperatur der Nährlösung von ungefähr 20 ° C herangewachsen waren, wurde je eine Gruppe der Versuchsreihe in Tröge mit verschiedener Wassertemperatur gestellt und die Infektionsperiode eingeleitet. Es wurden acht Temperaturstufen von 6,5 ° C (tiefer konnte aus technischen Gründen nicht gegangen werden) bis 36 ° C mit je etwa 4 ° Differenz von Stufe zu Stufe gewählt. Da die Wassertemperatur in den Trögen immer kleinere Schwankungen aufwies, wurde sie tagsüber alle zwei Stunden kontrolliert und von den Ablesungen das Mittel genommen. Die erste am Morgen wurde vierfach berücksichtigt. Die Infektionsperiode dauerte 2½ Tage. Dann wurden die Wurzeln wie bei den früheren Versuchen abgespült, alle Töpfe autoklaviert, mit frischer Nährlösung angefüllt und auf die ursprüngliche Temperatur von 20 ° C zurückgestellt. Nach weiteren 17 Tagen wurde der Versuch abgebrochen.

Ergebnisse: Siehe Tabelle 9.

Tabelle 9
Der Einfluß der Temperatur der Nährlösung auf die Infektionshäufigkeit
Der Einfluß auf das Verhalten des Erregers

Temperatur der Nährlösung während der Infektionsperiode in ° C	Knöllchenzahl je Pflanze	Knöllchengewicht je Pflanze in mg	Einzelknöllchengewicht in mg
6,8	279,0 ± 73,5	16,70 ± 3,69	0,065 ± 0,001
9,2	273,6 ± 60,4	18,30 ± 4,28	0,070 ± 0,001
16,1	265,6 ± 72,0	17,60 ± 3,39	0,067 ± 0,007
20,3	257,9 ± 72,5	18,80 ± 3,89	0,068 ± 0,009
23,6	260,9 ± 44,1	17,60 ± 3,38	0,069 ± 0,007
27,0	247,6 ± 40,9	16,70 ± 3,76	0,073 ± 0,003
32,2	130,0 ± 27,0	13,00 ± 3,65	0,101 ± 0,002
35,4	47,2 ± 12,9	7,10 ± 1,80	0,105 ± 0,002

Diskussion der Ergebnisse: Abnehmende Temperaturen bis zu 7 ° C haben keinen nachteiligen Einfluß auf das Infektionsvermögen der Knöllchenbakterien. Die Knöllchenzahl bleibt von 7—27 ° C annähernd konstant, sinkt dann aber bei 32 ° C auf die Hälfte und bei 35,4 ° C auf ungefähr ein Sechstel ab. Das Einzelknöllchengewicht bleibt wie zu erwarten konstant, steigt dann aber von 27—35,4 ° C merklich an (vgl. Tabelle 9). Vergleicht man die Ergebnisse dieses Versuches mit denjenigen des Tastversuches von Seite 396, so sieht man, daß hier Temperaturen unter 10 ° C die Aggressivität des Erregers nicht verändern, dort aber die Knöllchenproduktion deutlich herabsetzen. Nach Abb. 7 kann diese Abnahme der Knöllchenproduktion von der Seite des Wirtes her mit einer Herabsetzung der Infektionshäufigkeit, und von der Seite des Wirtes und des Erregers her mit einer Beeinträchtigung des Knöllchenwachstums erklärt werden.

Ein weiterer Versuch, mit dessen Hilfe unter Umständen der Temperatureinfluß der Nährlösung auf die Aggressivität des Erregers geprüft werden kann, wird folgendermaßen angelegt: Eine Versuchsreihe mit der notwendigen Anzahl Versuchsgruppen sowie einer entsprechenden Kontrollreihe werden angesetzt. Alle Versuchsgruppen stehen während

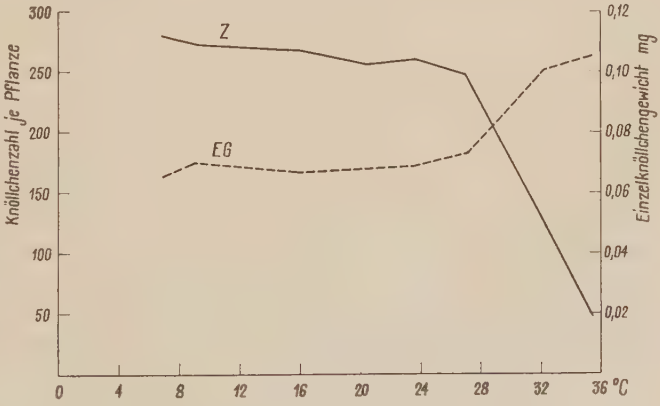


Abb. 8. Der Einfluß der Temperatur der Nährlösung auf die Infektionshäufigkeit
Der Einfluß auf das Verhalten des Erregers
Abszisse: Temperatur der Nährlösung während der Infektionsperiode
Ordinate links: Knöllchenzahl je Pflanze (Kurve Z)
Ordinate rechts: Einzelknöllchengewicht (Kurve EG)

der ganzen Dauer des Versuches unter den gleichen Temperaturbedingungen (20° C). Für jede Gruppe wird je ein Erlenmeyerkolben mit Knöllchenbakterien beimpft und während acht Tage bei 24° C inkubiert. Nach dieser Zeit wird je ein Kolben während zweier, evtl. auch mehrerer Tage in Thermostaten mit verschiedenen Temperaturen gestellt. Dann werden die Pflanzen der einzelnen Versuchsgruppen mit diesen Kulturen beimpft. Nach einer Infektionsperiode von zwei Tagen und einer Periode der Tumorbildung von 14—21 Tagen, während welcher die Knöllchenbildung in keimfreier Nährlösung vor sich geht, wird der Versuch abgebrochen.

b) Der Einfluß auf das Verhalten des Wirtes

Versuchsfrage: Welchen Einfluß hat die Temperatur der Nährlösung auf die antiinfektionelle Abwehrbereitschaft des Wirtes?

Versuchsanordnung: Der Versuch wird mit zwei Versuchsreihen und einer der Versuchsreihe 1 entsprechenden Kontrollreihe angesetzt. Die Töpfe beider Versuchsreihen werden in Versuchsgruppen zusammengefaßt, wobei je eine Gruppe der Versuchsreihe 1 und je eine Gruppe der Versuchsreihe 2 während der Vorperiode in Tröge mit unterschiedlicher Wassertemperatur gestellt werden. Vor der Infektionsperiode werden die Pflanzen der Versuchsreihe 2 abgeerntet. Unter Lupenvergrößerung wird die durchschnittliche Anzahl der gebildeten Wurzelhaare je cm Seitenwurzeln bestimmt, sowie durch Trocknen und Wägen das durchschnittliche Trockengewicht der Seitenwurzeln und der oberirdischen Pflanzenteile ermittelt. Während der Infektionsperiode, welche nicht länger als zwei bis drei Tage dauern soll, werden alle Gruppen der Versuchsreihe 1 unter gleichen Temperaturbedingungen gehalten. Das nämliche gilt auch für die anschließende Periode der Tumorbildung, nach welcher der Versuch abgebrochen wird.

§ 2. Der Einfluß der Temperatur der Nährlösung auf das Knöllchenwachstum

Die Prüfung des Temperatureinflusses auf das Knöllchenwachstum ist mit gewissen Schwierigkeiten verbunden, da es praktisch unmöglich ist, den Einfluß einerseits auf den Erreger und anderseits auf den Wirt während der Knöllchenbildung quantitativ zu erfassen. Die beiden Partner sind miteinander ein so enges symbiontisches Verhältnis eingegangen, daß der Anteil eines jeglichen an der Tumorbildung nicht mehr festgestellt werden kann. Es ist jedoch anzunehmen, daß das optimale Knöllchenwachstum zwischen dem Temperaturoptimum für das Wurzelwachstum und demjenigen für das Bakterienwachstum, also zwischen 20 und 24° C liegt. Diese Frage soll im nächsten Versuch geprüft werden.

Versuch 10

Versuchsfrage: Wie beeinflußt die Temperatur der Nährlösung das Knöllchenwachstum?

Versuchsanordnung: Der Versuch umfaßte 35 Töpfe zu je 20 Pflanzen, welche in sieben Versuchsgruppen eingeteilt wurden. Während der Vorperiode wuchsen alle Pflanzen bei ungefähr 20° C heran. Dann wurden sie beimpft. Nach einer Infektionsperiode von zwei Tagen wurden die Bakterien nach der üblichen Methode aus den Töpfen entfernt und die Pflanzen bei verschiedenen Temperaturen weiterwachsen gelassen. Die Periode der Tumorbildung dauerte 17 Tage. Dann wurde der Versuch abgebrochen.

Ergebnisse: Siehe Tabelle 10.

Tabelle 10

Der Einfluß der Temperatur der Nährlösung auf das Knöllchenwachstum

Temperatur der Nährlösung während der Periode der Tumorbildung in °C	Knöllchenzahl je Pflanze	Knöllchengewicht je Pflanze in mg	Einzelknöllchengewicht in mg
8	7,1 ± 1,4	0,64 ± 0,21	0,088 ± 0,018
12	19,8 ± 9,2	1,38 ± 0,42	0,064 ± 0,009
16	34,5 ± 11,8	2,10 ± 0,93	0,065 ± 0,014
21	71,5 ± 13,9	4,28 ± 1,26	0,057 ± 0,012
26	38,0 ± 14,1	1,93 ± 0,89	0,052 ± 0,008
30	vereinzelt	—	—
36	0	—	—

Diskussion der Ergebnisse: Die Annahme auf Seite 400 hat sich als richtig erwiesen. Die Temperaturoptima für Knöllchenwachstum, Wachstum des Wirtes und Wachstum des Erregers fallen ungefähr zusammen. Die höchste Knöllchenzahl und das höchste Knöllchengewicht je Pflanze wurden bei 21° C ermittelt. Auffallend ist wiederum das sinkende Einzelknöllchengewicht bei steigender Knöllchenzahl, trotzdem diesmal, im Gegensatz zu Versuch 9, das Knöllchenwachstum unter verschiedenen Temperaturverhältnissen erfolgte. Das Einzelknöllchengewicht scheint also nur indirekt durch die Temperatur beeinflußt zu werden, nämlich in dem Sinne, daß die Temperatur der Nährlösung über die Anzahl der zur Knöllchenbildung führenden Infekte entscheidet, und daß jene sich ihrerseits auf die Knöllchengröße auswirkt. Ein direkter Einfluß hingegen kann bei der 26° C-Reihe angenommen werden, wo mit abnehmender Knöllchenzahl auch das Einzelknöllchengewicht weiterhin absinkt. Bei 30° C waren die wenigen Knöllchen nur noch andeutungsweise ausgebildet.

Zusammenfassung

1. Es wurde eine Versuchsmethode beschrieben, mit welcher es gelang, den Einfluß einiger Umweltfaktoren (Stickstoffgehalt, Phosphorsäuregehalt und Temperatur der Nährlösung) einerseits auf die Infektionshäufigkeit und anderseits auf das Knöllchenwachstum bei *Pisum sativum* L. quantitativ zu erfassen.

2. Stickstoffmengen von 0,32 g N je 1000 cc Nährlösung (2N-Lösung) setzen die Infektionshäufigkeit um ungefähr 40 % herab, während dieselbe Stickstoffkonzentration der Nährlösung das Knöllchenwachstum vollständig unterbindet. Durch den Stickstoff werden also sowohl die Infektions- als auch die Erkrankungsdisposition des Wirtes verschoben (Versuche 1—4).

3. Die Phosphorsäure beeinflußt die Infektionshäufigkeit nicht (Versuch 5), stimuliert hingegen das Knöllchenwachstum (Versuche 6, 7 und 8).

4. Die Knöllchenzahl je Pflanze ist kein sicheres Kriterium für die Häufigkeit erfolgter Infektionen; sie wird in ebenso starkem Maße durch das Knöllchenwachstum bestimmt. Geht nämlich unter ungünstigen Verhältnissen (hohe Stickstoffkonzentrationen, Phosphorsäure- und Lichtmangel) das Tumorwachstum nur schlecht vor sich, so gelangen nur wenige bis gar keine der erfolgten Infektionen zur Knöllchenbildung; sie bleiben latent und die Knöllchenzahl ist klein (Versuche 3, 4, 6, 7 und 10).

5. Bei den Temperaturversuchen muß, im Gegensatz zu den Nährstoffversuchen, der Einfluß der Temperatur auf den Erreger mitberücksichtigt werden. Eine Abnahme seiner Aggressivität macht sich jedoch erst von ungefähr 27 ° C an bemerkbar. Kühle Temperaturen bis zu 6,5 ° C (tiefer konnte aus technischen Gründen nicht gegangen werden) beeinflussen sein Infektionsvermögen nicht (Versuch 9).

6. Die Temperaturoptima für das Wachstum des Erregers, des Wirtes und der Tumore fallen ungefähr zusammen und liegen zwischen etwa 20 und 24 ° C (Versuch 10).

Literaturverzeichnis

ALBRECHT, W. L. and DAVIS, F. L., 1929. Physiological importance of calcium in legume inoculation. Bot. Gaz. **88**, 310—321.

BRENCHLEY, W. E. and THORNTON, H. G., 1925. The relation between the development, structure, and functioning of the nodules on *Vicia faba*, as influenced by the presence or absence of the boron in the nutrient medium. Roy. Soc. (London), Proc., Ser. B., **98**, 373—398.

COOK, W. S., 1937. Bot. Gaz. **98**, 647—669.

DIENER, TH., 1950. Über die Bedingungen der Wurzelknöllchenbildung bei *Pisum sativum*. Phytopath. Zschr. **16**, 129—170.

FRED, E. B., BALDWIN, I. L. and MCCOY, E., 1932. Root nodule bacteria and leguminous plants. Univ. of Wisconsin, Stud. in Sci. **5**, 343 p.

GANGULEE, N., 1926. Studies on the lucerne nodule organism *(B. radicicola)* under laboratory conditions. Ann. Appl. Biol. **13**, 360—373. (zit. Nach FRED, BALDWIN and MCCOY, 1932).

GÄUMANN, E., 1944. Immunreaktionen und Immunität bei Pflanzen. Schw. Zeitschr. f. Path. und Bakt. VII, Fasc. 4, 407—441.

— —, 1951. Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Verlag Birkhäuser, Basel.

— —, JAAG, O. und ROTH, ST., 1945. Über einen Immunisierungsversuch mit Wurzelknöllchenbakterien bei Leguminosen. Ber. Schw. Bot. Ges. **55**, 270—277.

— — und Riethmann, O., 1938. Zur Methodik der Versuche mit konstanten Bodentemperaturen. Phytopath. Zschr. **11**, 571—634.

Georgi, C. E., 1935. Influence of the carbohydrate-nitrogen relation on nodule production by red clover. Jour. Agr. Research. **51**, 597—612.

Hopkins, E. W., Wilson, P. W. and Peterson, W. H., 1932. Influence of potassium nitrate on nodule formation and nitrogen fixation by clover. Plant Physiol. **7**, 597—611.

— — and Fred, E. B., 1933. Influence of various nitrogenous compounds and mannitol on nodule formation by clover. Plant Physiol. **8**, 141—155.

Jones, F. R. and Tisdale, W. B., 1921. Effect of soil temperature upon the development of nodules on the roots of certain legumes. Jour. Agr. Research. (U. S.) **22**, 17—31.

Leonard, L. T., 1926. A preliminary note on the relation of photosynthetic carbohydrate to nodule formation by soybeans. Jour. Amer. Soc. Agron. **18**, 1012—1016. (zit. nach Fred, Baldwin and McCoy, 1932).

Linder, A., 1945. Statistische Methoden. Verlag Birkhäuser, Basel.

McCoy, E., 1932. Infection by Bact. radiciola in relation to the microchemistry of the host's cell walls. Roy. Soc. (London), Proc., Ser. B., **110**, 514—533.

Milovidov, P. F., 1926. Über einige neue Beobachtungen an den Lupinenknöllchen. Cbl. Bakt., 2. Abt., **68**, 33—345.

Müller, A. und Stapp, C., 1925. Beiträge zur Biologie der Leguminosenknöllchenbakterien mit besonderer Berücksichtigung ihrer Artverschiedenheit. Arb. Biol. Reichsanst. Land- u. Forstw. **14**, 455—554.

Nobbe, F. und Hiltner, L., 1899. Über die Wirkung der Leguminosenknöllchen in Wasserkulturen. Landw. Vers. Sta., **52**, 455—465.

Poschenrieder, H., Sammet, K. und Fischer, R., 1940. Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Ernährung mit Kali und Phosphorsäure auf die Ausbildung der Wurzelknöllchen und die Tätigkeit der Knöllchenbakterien bei der Soyabohne. Cbl. Bakt., 2. Abt., **102**, 388—395 u. 425—432.

Rautenberg, F. und Kühn, G., 1864. XVIII Vegetationsversuche im Sommer 1863. Jour. Landw. **12**, 107—140. (zit. nach Fred, Baldwin and McCoy, 1932).

Strowd, W. H., 1920. The relation of nitrates to nodule production. Soil Sci. **10**, 343—356.

Thornton, H. G., 1930 a. The influence of the host plant in inducing parasitism in lucern an clover nodules. Roy. Soc. (London), Proc., Ser. B., **119**, 474—492.

— —, 1936 a. The action of sodium nitrate upon the infection of lucerne root-hairs by nodule bacteria. Roy. Soc. (London), Proc., Ser. B., **119**, 474—492.

— — and Nicol, H., 1936. Reduction of nodule numbers and growth, produced by the addition of sodium nitrate to lucerne in sand culture. Jour. Agr. Sci. **26**, 173—188.

— —, Rudorf, J. E. and Joyce, E., 1936. The abnormale structure induced in nodules on lucerne *(Medicago sativa)*, by the supply of sodium nitrate to the host plant. Roy. Soc. (London), Proc., Ser. B., **120**, 240—252.

Weber, E., 1930. Salpeterdüngung als Beeinträchtigung der Stickstoffsammlung durch Leguminosen. Cbl. Bakt., 2. Abt., **82**, 353—379.

Wilson, J. K., 1917. Physiological studies of the *Bacillus radicicola* of the soybean *(Soja Max Piper)* and of the factors influencing nodule production. N. Y. (Cornell) Agr. Expt. Sta., Bul. **386**, 369—413. (zit. nach Fred, Baldwin and McCoy, 1932).

Wunschik, H., 1925. Erhöhung der Wirksamkeit der Knöllchenerreger unserer Schmetterlingsblütler durch Passieren der Wirtspflanze. Cbl. Bakt., 2. Abt., **64**, 395—444.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Untersuchungen über zwei Welketoxine

Von

Ernst Gäumann, Heinz Kern und Walter Sauthoff

Mit 8 Abbildungen

Im folgenden möchten wir über die Einwirkung des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes auf den Wasserhaushalt der Tomatenpflanzen und über einige analoge Versuche mit Alternariasäure berichten. Die hier als typisch mitgeteilten Kurven stellen naturgemäß nur eine kleine Auswahl aus einem reicheren Tatsachenmaterial dar.

1. Der Lycomarasmin-Eisen-Komplex

In einer früheren Arbeit (Gäumann, Naef-Roth und Miescher, 1950, S. 272) gelangten wir zum Schluß, daß sich das Lycomarasmin wahrscheinlich im Innern der Wirtspflanze mit gewissen Eisenverbindungen des Plasmas aequimolar zu dem zehnmal giftigeren Lycomarasmin-Eisen-Komplex verbindet, falls man ihm einige Stunden Zeit läßt, um auf die Wirtspflanze einzuwirken. Diese Umsetzung des Lycomarasmins in den giftigen Lycomarasmin-Eisen-Komplex würde vor allem bei spontanen Infektionen durch den Pilz selbst stets erfolgen, da sich hier der Erkrankungsverlauf über mindestens 2—3 Wochen hin erstreckt.

Da die durch den aequimolaren Lycomarasmin-Eisen-Komplex ausgelösten grobsinnlichen Symptome mit denen des reinen Lycomarasmins identisch sind, so steht von dieser Seite her unserer Annahme nichts im Wege; doch würde sie noch an Überzeugungskraft gewinnen, wenn es gelänge zu beweisen, daß der aequimolare Lycomarasmin-Eisen-Komplex, wenn er schon vorgebildet in die Versuchspflanzen eingeführt wird, in derselben Weise wie das reine Lycomarasmin auf den Wasserhaushalt der Wirtspflanzen einwirkt.

Der von uns verwendete Lycomarasmin-Eisen-Komplex wurde von Herrn Dr. A. Boller vom organisch-chemischen Institut unserer Hochschule (Abteilung Prof. Dr. Pl. A. Plattner) in der folgenden Weise hergestellt.

554 mg Lycomarasmin wurden in 0,2 normaler Bariumhydroxydlösung (pH 6,8) gelöst; dann wurde eine heiße Lösung von 400 mg Eisen (III)-

sulfat in 30 ml Wasser zugefügt. Das Filtrat wurde im Vakuum über Kaliumhydroxyd zur Trockne eingeengt. Dadurch erhielt man 680 mg Lycomarasmin-Eisen-Komplex als braune, glasig-spröde, leicht wasserlösliche Flitter. Die für die Transpirationsversuche verwendeten Lösungen wurden jeweils mit normaler Natronlauge auf pH 6,0 eingestellt.

Als Beleg dafür, daß der Lycomarasmin-Eisen-Komplex in artgleicher Weise wie das reine Lycomarasmin auf den Wasserhaushalt der Tomatenpflanzen einwirkt, möchten wir zwei Versuche besprechen, einen Versuch mit einer letalen und einen Versuch mit einer subletalen Toxindosis. Die Methode wurde bei GÄUMANN und JAAG (1947) beschrieben.

Abb. 1 gibt die Transpirationskurven wieder, die mit einer letalen Toxindosis, nämlich mit einer 10^{-3} molaren Lycomarasmin-Eisen-Lösung gewonnen wurden. Das Kurvenbild deckt sich in ganz frappanter Weise mit der Transpirationsstörung, die GÄUMANN und JAAG (1946) und GÄUMANN (1951, Abb. 460) für eine 10^{-2} molare reine Lycomarasminlösung abgebildet haben. Hier wie dort antwortet die Pflanze auf die Applikation des Toxines mit einer schockartigen Drosselung von Wasseraufnahme und Transpiration, gefolgt von einem starken Anstieg und einer teilweisen Übersteigerung der beiden Komponenten; hier wie dort sinken beide Wasserhaushaltskurven nach dem Überschreiten des Höhepunktes der Störung dauernd ab, und hier wie dort werden kurze Zeit nach dem Überschreiten des Höhepunktes der Wasserhaushaltsstörung grobsinnliche Schädigungen an den Blattspreiten sichtbar.

Anderseits ist die Versuchspflanze in Abb. 1 beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex schon 5 Stunden nach dem Auftreten der ersten Erkrankungssymptome schwer geschädigt und welk, während dieser Effekt in der oben zitierten Abb. 460 beim reinen Lycomarasmin erst nach 10—15 Stunden auftrat. Diese Diskrepanz entspricht jedoch der Erwartung; denn der Lycomarasmin-Eisen-Komplex ist rund zehnmal giftiger als das reine Lycomarasmin.

Als zweiten Beleg für die Identität der Wirkung des Lycomarasmins und des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes stellen wir in Abb. 2 die Störungen dar, die der Wasserhaushalt eines Tomatensprosses durch eine s u b l e t a l e Toxindosis erfährt, nämlich durch eine 10^{-5} molare Lycomarasmin-Eisen-Lösung. Sie entspricht der Abbildung, die bei GÄUMANN und JAAG (1947) bzw. bei GÄUMANN (1951, Abb. 462) für eine 10^{-5} molare reine Lycomarasminlösung veröffentlicht wurde.

In beiden Fällen bleibt die Schockwirkung aus; in beiden Fällen wird der Wasserhaushalt der Versuchspflanze nachhaltig gestört (in dem Zeitabschnitt, der in Abb. 2 dargestellt wurde, ist die Wasseraufnahme zufällig vorübergehend größer als die Wasserabgabe); und in beiden Fällen bleibt die Versuchspflanze trotz der nachhaltigen Störung ihres Wasserhaushaltes symptomlos.

Aus diesen beiden Versuchsreihen und aus dem weiteren uns zur Verfügung stehenden Material möchten wir schließen, daß das Lycomarasmin

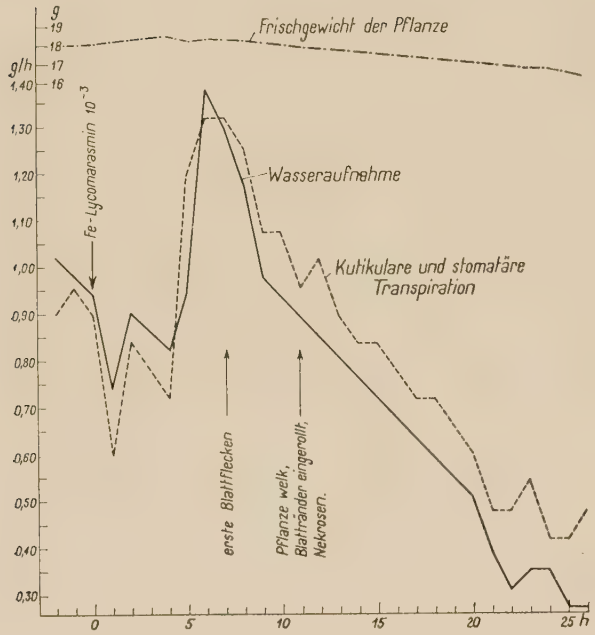


Abb. 1.

Die Störung der Wasserbilanz eines Tomatensprosses durch eine letale Dosis des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes.

Abszisse:

Stunden nach Versuchsbeginn.

Ordinate:

Wasseraufnahme bzw. -abgabe (Transpiration) des gesamten Sprosses in g/h bzw. Frischgewicht des Sprosses in g. Beim Pfeil wurde das nachgeschobene Wasser durch eine 10^{-3} molare Lycomarasmin-Eisen-Lösung ersetzt. Lufttemperatur 20.5—20.7 °. Rel. Feuchtigkeit 70—75 %. Fünf Fluoreszenzlampen

tatsächlich im Innern der Wirtspflanzen normalerweise in Form des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes zur Auswirkung gelangt.

Die Sachlage im Bereich der natürlichen Infektionen wird aber überdies durch den Umstand kompliziert, daß das *Fusarium lycopersici* neben dem Lycomarasmin noch ein zweites Toxin, nämlich Fusarinsäure, bildet. Über die Einwirkung dieses zweiten Giftes auf den Wasserhaushalt der Tomatenpflanzen berichten wir in einer späteren Arbeit.

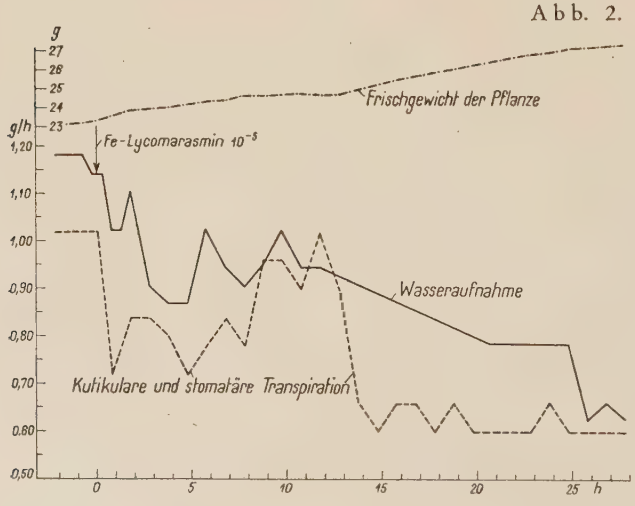


Abb. 2. Die Störung der Wasserbilanz eines Tomatensprosses durch eine subletale Dosis des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes.

Abszisse:

Stunden nach Versuchsbeginn.

Ordinate:

Wasseraufnahme bzw. -abgabe (Transpiration) des gesamten Sprosses in g/h bzw. Frischgewicht des Sprosses in g. Beim Pfeil wurde das nachgeschobene Wasser durch eine 10^{-5} molare Lycomarasmin-Eisen-Lösung ersetzt. Lufttemperatur 20.7—20.8 °. Rel. Feuchtigkeit 70—75 %. Fünf Fluoreszenslampen

2. Alternariasäure

Alternariasäure ist ein Welketoxin, das von Brian, Curtis, Hemming, Unwin und Wright (1949) aus mehreren Stämmen der *Alternaria solani* (E. et M.) J. et Gr. und aus einem Stamm der *Alternaria porri* (Ell.) Saw. isoliert wurde. Neben ihr bildet die *Alternaria solani* noch ein zweites Antibioticum, nämlich das Alternarin von Darpoux, Faivre-Amiot und Roux (1950). Die chemische Konstitution der Alternariasäure ist noch nicht bekannt. Nach einer freundlichen Mitteilung von Herrn Kollegen Brian beträgt ihre Bruttoformel $C_{21}H_{30}O_8$ und ihr Molekulargewicht 410.

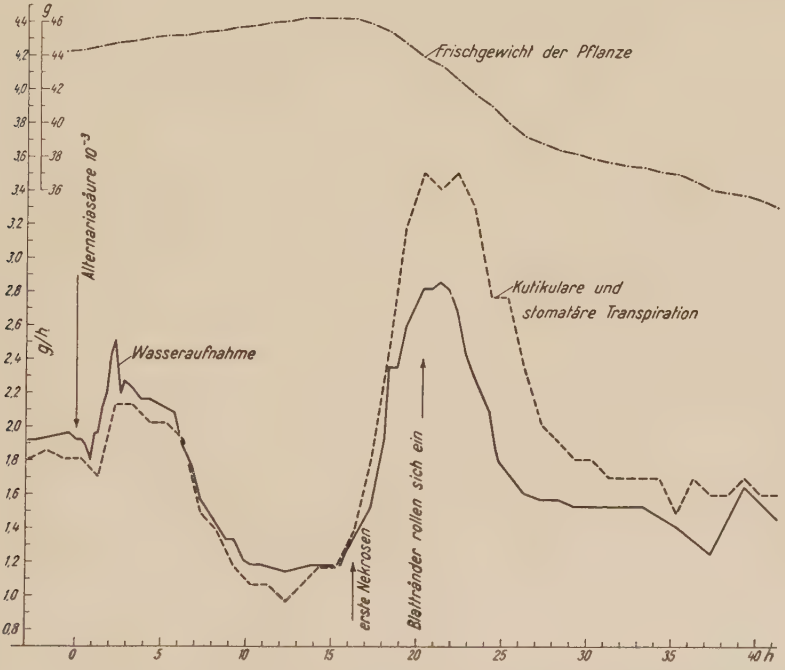


Abb. 3. Die Störung der Wasserbilanz eines Tomatensprosses durch eine 10^{-3} molare Alternariasäure-Lösung. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn. Ordinate: Wasseraufnahme bzw. -abgabe (Transpiration) des gesamten Sprosses in g/h bzw. Frischgewicht des Sprosses in g. Beim Pfeil wurde das nachgeschobene Wasser durch eine 10^{-3} molare Alternariasäure-Lösung ersetzt. Frischgewicht des Sprosses 44.3 g. Lufttemperatur 19.8—20.2°. Rel. Feuchtigkeit 75%. 5 Fluoreszenzlampen

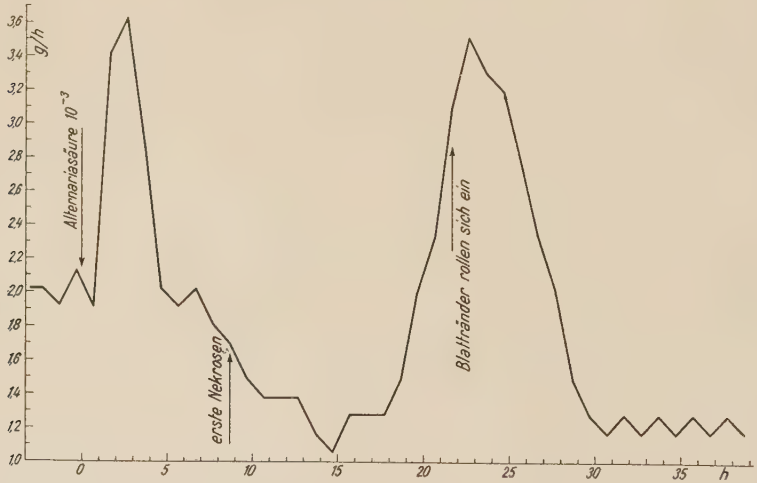
In einem Referat am VII. Internationalen Botanikerkongreß in Stockholm berichteten Brian und Wright (1950) über die Toxikologie der Alternariasäure und teilten unter anderem mit, daß ihre Einwirkung auf den Wasserhaushalt des Wirtes sich ähnlich gestalte wie beim Lycomarasmin: auf eine kurze Drosselungsphase folge eine Phase einer starken Übersteigerung der Wasseraufnahme und hernach eine abschließende Phase eines dauernden Abfalles derselben. Wir sind deshalb Herrn Kollegen Brian

herzlich dankbar, daß er uns eine erhebliche Menge Alternariasäure zur Verfügung stellte, damit wir mit unseren eigenen Versuchspflanzen und unter genau denselben Versuchsbedingungen wie bisher bei den übrigen Welketoxinen den Störungseffekt, den die Alternariasäure beim Wasserhaushalt der Tomatensprosse auslöst, mit demjenigen des Lycomarasmins und des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes vergleichen konnten.

Zur Herstellung einer 10^{-3} molaren Versuchslösung schüttelten wir 41 mg Substanz mit etwa 75 ml Aqua dest. während fünf Minuten kräftig durch, so daß die Substanz gut suspendiert wurde; dann stellten wir das pH mit 1/1 normal NaOH auf 6,3 ein und erwärmten die Suspension unter ständigem Schütteln 20 Minuten im Wasserbad bei 63 ± 2 °. Dabei wurde das pH von Zeit zu Zeit kontrolliert; denn es darf nicht unter 5,9 sinken. Anschließend wurde außerhalb des Wasserbades noch fünf Minuten kräftig geschüttelt, unter fließendem Leitungswasser abgekühlt, auf pH 6,0 eingestellt und auf 100 ml aufgefüllt. 10^{-6} und 10^{-7} molare Lösungen wurden durch Verdünnen der 10^{-3} molaren Lösung erhalten.

Eine Auswahl aus den Versuchsergebnissen ist in Abb. 3—7 zusammengestellt. Wir sehen:

1. Auf die Applikation des Toxines folgt sowohl bei den Kurven der Wasseraufnahme als bei den Kurven der kutikularen und stomatären Transpiration ein A b f a l l ; wir glaubten seinerzeit, er sei charakteristisch für das Lycomarasmin und den Lycomarasmin-Eisen-Komplex; doch findet sich eine gewisse Drosselung des Wasserumsatzes, wie schon Brian und Wright feststellten, auch bei den Alternariasäure-Kurven regelmäßig vertreten.



A b b. 4. Die Störung der kutikularen und stomatären Transpiration eines Tomatensprosses durch eine 10^{-3} molare A l t e r n a r i a s ä u r e - Lösung. A b s z i s s e : Stunden nach Versuchsbeginn. O r d i n a t e : Wasserabgabe des gesamten Sprosses in g/h. Beim Pfeil wurde das nachgeschobene Wasser durch eine 10^{-3} molare Alternariasäure-Lösung ersetzt. Frischgewicht des Sprosses 42.5 g. Lufttemperatur 19.2—19.6 °. Rel. Feuchtigkeit 65—70 %. 5 Fluoreszenzlampen

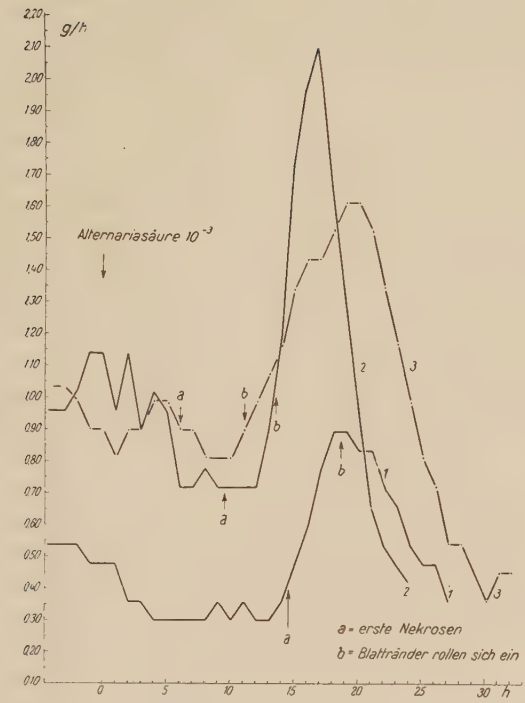


Abb. 5. Die Störung der kutikularen und stomatären Transpiration von Tomatensprossen durch eine 10^{-3} molare Alternariasäure-Lösung. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn. Ordinate: Wasserabgabe des gesamten Sprosses in g/h. Beim Pfeil wurde das nachgeschobene Wasser durch eine 10^{-3} molare Alternariasäure-Lösung ersetzt. Frischgewicht des 1. Sprosses 22,9 g, des 2. Sprosses 26,5 g und des 3. Sprosses 54,5 g. Lufttemperatur je nach Versuch zwischen 21 und 24°. Rel. Feuchtigkeit je nach Versuch zwischen 63 und 70%. 5 Fluoreszenzlampen

Bei einer Toxinkonzentration von 10^{-3} molar bewegt sich das Ausmaß der Drosselung in einem ähnlichen Rahmen wie beim Lycomarasmin und beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex; der Wasserumsatz wird nämlich in ihrem Bereich in manchen Fällen, so in den Abb. 3 und 4, auf rund 50% vermindert; gelegentlich (so in Abb. 5) kann jedoch die hemmende Wirkung einer 10^{-3} molaren Alternariasäure-Lösung auch geringer sein.

Bemerkenswert ist, daß die Alternariasäure diesen starken primären Störungseffekt auf den Wasserumsatz auch noch in 1000mal schwächeren Lösungen voll ausübt (Abb. 6; 10^{-6} molar), also in Verdünnungen, in denen das Lycomarasmin längst wirkungslos geworden wäre; die Alternariasäure ist somit ein weit stärkeres Transpirationsgift als das Lycomarasmin und der Lycomarasmin-Eisen-Komplex. Erst in der Verdünnung von 10^{-7} molar beginnt die Drosselung sich zu verwischen; in Abb. 7 ist sie zwar bei der Transpirationskurve noch andeutungsweise vorhanden; doch ist dies ein Zufall.

Der Umstand, daß die Alternariasäure ein weit stärkeres Transpirationsgift ist als das Lycomarasmin und der Lycomarasmin-Eisen-Komplex, mag vielleicht auch bewirken, daß die Schockphase erheblich länger dauert als beim Lycomarasmin und beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex; bei diesen letztgenannten Toxinen geht sie meistens schon nach 3—5 Stunden zu Ende (z. B. GÄUMANN, 1951, Abb. 460), während sie bei Alternariasäure 10—18 Stunden anhält, ohne daß dabei eine Beziehung zwischen der Konzentration des eingebrachten Toxines und der Dauer der Schockphase zu erkennen wäre.

Ferner kann es bei der Alternariasäure in seltenen Fällen geschehen, daß die Schockphase nicht gleichmäßig verläuft, sondern von einer kurzen, vorübergehenden Übersteigerung des Wasserumsatzes unterbrochen wird. In den fünf Kurven der Abb. 5—7 ist diese Störung nicht vorhanden; dagegen deutet in Abb. 3 eine kleine Zacke, die drei Stunden nach der Applikation des Giftes auftritt, auf eine derartige Störungsmöglichkeit hin, und einen völlig extremen Fall, dem wir nur zweimal begegneten, haben wir in Abb. 4 wiedergegeben.

2. Die Übersteigerungsphase. Die unverhältnismäßig starke Übersteigerung der Wasseraufnahme und der Transpiration, die wir seinerzeit als charakteristisch für die Lycomarasminkurven betrachteten, kehrt in der Tat, wie schon Brian und Wright feststellten, auch bei den mit Alternariasäure gewonnenen Transpirationskurven regelmäßig wieder, und zwar in einer noch viel schärferen Ausprägung als beim Lycomarasmin und beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex; auch hierin erweist sich die Alternariasäure als ein weit stärkeres Transpirationsgift als die beiden eben genannten Toxine.

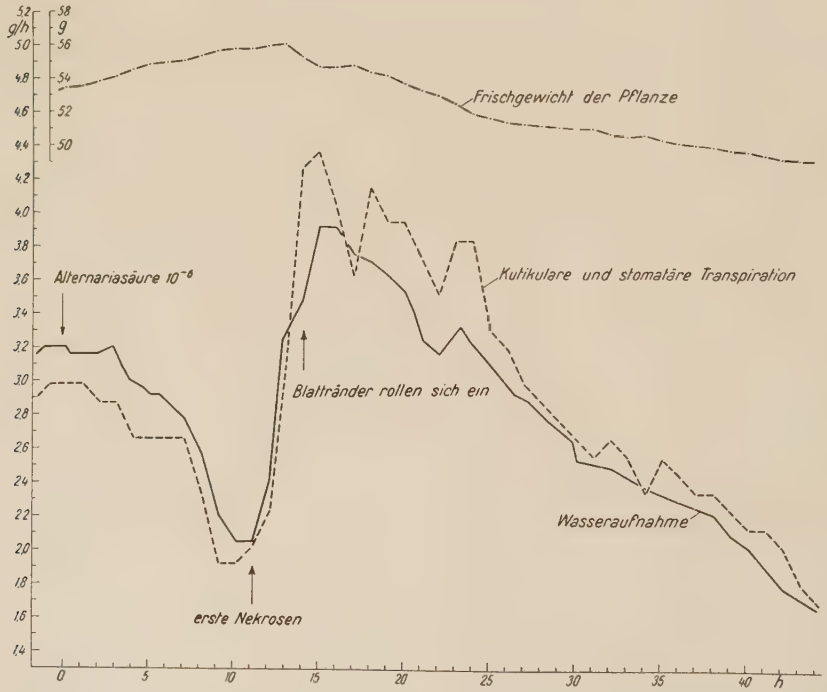


Abb. 6. Die Störung der Wasserbilanz eines Tomatensprosses durch eine 10^{-6} molare Alternariasäure-Lösung. Abszissse: Stunden nach Versuchsbeginn. Ordinate: Wasseraufnahme bzw. -abgabe (Transpiration) des gesamten Sprosses in g/h bzw. Frischgewicht des Sprosses in g. Beim Pfeil wurde das nachgeschobene Wasser durch eine 10^{-6} molare Alternariasäure-Lösung ersetzt. Frischgewicht des Sprosses 53.4 g. Lufttemperatur 22.3—23.2°. Rel. Feuchtigkeit 75—85 %. 5 Fluoreszenzlampen

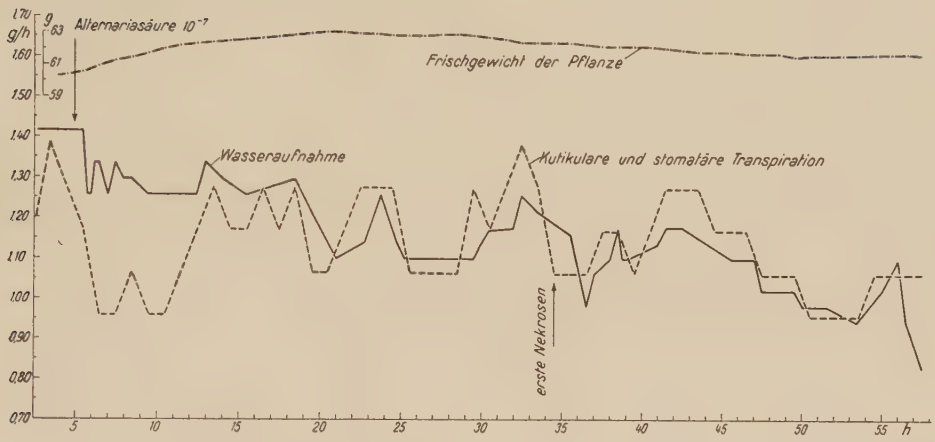


Abb. 7. Die Störung der Wasserbilanz eines Tomatensprosses durch eine 10^{-7} molare Alternariasäure-Lösung. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn. Ordinate: Wasseraufnahme bzw. -abgabe (Transpiration) des gesamten Sprosses in g/h bzw. Frischgewicht des Sprosses in g. Beim Pfeil wurde das nachgeschobene Wasser durch eine 10^{-7} molare Alternariasäure-Lösung ersetzt. Frischgewicht des Sprosses 60.4 g. Lufttemperatur 20.4—21.7 °. Rel. Feuchtigkeit 65—70 %. 5 Fluoreszenzlampen

In Abb. 3 und in Abb. 5, Kurve 2, beträgt die pathologische Übersteigerung der Transpiration, bezogen auf den Normalzustand, rund 100 %, und rund 350 %, falls wir den Kurvengipfel auf die vorangehende Depression beziehen; und in Abb. 4 und 6 und in Abb. 5, Kurven 1 und 3, beträgt die pathologische Übersteigerung der Transpiration, bezogen auf den Normalzustand, rund 50—75 %, und rund 200—300 %, verglichen mit der vorangehenden Depression. Das Lycomarasmin und der Lycomarasmin-Eisen-Komplex verursachen wohl, verglichen mit der vorangehenden Depression, ähnliche Ausschläge der Transpiration, dagegen bei weitem nicht in einem solchen Ausmaße, wenn wir die pathologische Störung der Transpirationsrate auf den gesunden Zustand beziehen.

3. Der dauernde Abfall des Wasserumsatzes. Auch diese Phase ist, wie schon Brian und Wright feststellten, nicht nur beim Lycomarasmin und beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex, sondern auch bei den durch Alternariasäure ausgelösten pathologischen Wasserhaushalts-Kurven vertreten. Nur verläuft der Abfall des Wasserumsatzes bei den Alternariasäure-Kurven in der Regel weit akzentuierter als bei den mit Lycomarasmin und mit dem Lycomarasmin-Eisen-Komplex gewonnenen Kurven. Bei diesen letzteren folgt auf die paroxystische Übersteigerung des Wasserumsatzes ein mehr oder weniger gleichmäßiges Absinken der Wasseraufnahme und der Transpiration (man betrachte z. B. die schon mehrmals zitierte Abb. 460 bei Gäumann, 1951); einen derart ausgeglichenen Leistungsabfall finden wir bei den Alternariasäure-Kurven nur als Ausnahme (z. B. in Abb. 6). In der Regel vollzieht sich bei der Alternariasäure der Abfall

der Kurven der Wasseraufnahme und der Transpiration heftig und krisenhaft, ungefähr ebenso steil wie vorher ein pathologischer Anstieg erfolgt ist. Dadurch erhalten die Kurven des pathologischen Wasserumsatzes bei der Alternariasäure das Bild einer rund zehn Stunden breiten, steil überhöhten Zacke (am schärfsten ausgeprägt in Abb. 5, Kurve 2).

Leider vermögen wir diesen Kurvenverlauf noch nicht zu deuten. Der abrupte Anstieg und Abfall der Transpiration bereitet ja dem Verständnis keine Schwierigkeiten; man kann sich vorstellen, daß infolge der Koagulasewirkung des betreffenden Toxines das mizellar gebundene Wasser plötzlich freigesetzt wird, in den Transpirationsstrom der Zellwände hinaustritt und sogleich wegtranspiriert wird (daher der pathologische Anstieg der Transpiration), und daß hernach, nachdem dieses freigesetzte Wasser wegtranspiriert worden ist, eben keine Wasservorräte mehr zur Verfügung stehen (daher der pathologische Abfall der Transpiration).

Was wir jedoch nicht zu erklären vermögen, ist der gleichzeitig abrollende abrupte Anstieg und Abfall der Wasseraufnahme. Man würde sich vorstellen, daß die Wasserleitungsbahnen der vergifteten Pflanze infolge ihrer toxigenen Schädigung nicht mehr funktionieren und daß deshalb der Wassernachschub des Sprosses dauernd absinkt. In diesem Falle müßte sich eine Kurve der vorübergehenden Übersteigerung der Transpiration (weil das mizellar gebundene Wasser losgelassen wird) über eine stetig abfallende Kurve der Wasseraufnahme wölben; dies geschieht jedoch bei unserem Kurvenmaterial fast nie; sondern Wasseraufnahme und Wasserabgabe laufen bei den mit dem Lycomarasmin, mit dem Lycomarasmin-Eisen-Komplex und mit der Alternariasäure gewonnenen Kurven in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle parallel und sind somit gleichermaßen toxigen gestört. Wir vermögen für diesen sonderbaren Sachverhalt noch keine Erklärung zu geben.

4. Das Auftreten der Krankheitssymptome. Beim Lycomarasmin und beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex treten die ersten Schädigungssymptome etwa 8—13 Stunden nach der Applikation des Giftes auf, bei den Alternariasäure-Kurven der Abb. 3—6 ungefähr innerhalb derselben Zeitspanne, nämlich 6—15 Stunden nach der Applikation des Giftes. Beim Lycomarasmin und beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex erscheinen dementsprechend die ersten Nekrosen frühestens zur Zeit des Paroxysmus der Störung des Wasserhaushaltes, in der Regel sogar 1—2 Stunden nach dem Überschreiten des Kurvengipfels; da aber die Schockphase bei der Alternariasäure länger dauert als beim Lycomarasmin und beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex, so werden bei ihr die ersten Nekrosen auf den Interkostalfeldern schon während der Schockphase sichtbar. Nur in Abb. 7, bei der die Toxinkonzentration an der unteren Letalitätsgrenze liegt, erscheinen die ersten Nekrosen erst lange nach dem Durchschreiten der Schockphase.

Diese fehlende Koppelung zwischen der toxigenen Störung des Wasserhaushaltes einerseits und der Auslösung von visuell erkennbaren Schädigungen (Nekrosen) an den Wirtsgeweben anderseits bestätigt unsere früher geäußerte Auffassung, wonach diese beiden Mechanismen auf unterschiedlichen Schädigungen beruhen; wir hatten ja schon früher gezeigt (GÄUMANN und JAAG, 1947), daß es beim Lycomarasmin ein toxigenes

Abb. 8
Schlußbild der Alternariasäure-Welke bei einem Tomatensproß. Konzentration 10^{-6} molar. Etwa 1/5 nat. Gr.

Welken ohne Wasserverlust (nämlich bei hoher Luftfeuchtigkeit) und einen toxigenen Wasserverlust ohne Welke-Effekt (nämlich bei niedriger Toxinkonzentration) gibt. Der Umstand, daß auch bei der Alternariasäure die pathologische Störung des Wasserumsatzes unabhängig von der nekrogenen Schädigung des Wirtes einhergeht, bestätigt somit die Richtigkeit der seinerzeit an Hand des Lycomarasmins gewonnenen Auffassungen. Welche besonderen plasmatischen Organe und Funktionen jeweils durch das betreffende Toxin geschädigt werden, vermögen wir freilich zur Zeit noch nicht zu erkennen.

In ihrem äußeren Aussehen sind sich die Nekrosen bei sämtlichen Versuchen der Abb. 3—7 gleich, es handelt sich um Schädigungen der Interkostalfelder, die im auffallenden Lichte (von der Blattoberseite betrachtet) glänzend erscheinen, von der Blattunterseite her (im durchfallenden Lichte) als dunkle Flecken sich vom gesunden Gewebe abheben. Sie erinnern einerseits stark an die durch das Lycomarasmin an den Tomatenblättern ausgelösten Nekrosen (z. B. Gäumann, 1951, Abb. 422), und andererseits stimmen sie auch weitgehend mit der Nekrosenform überein, die der Erreger, *Alternaria solani*, selbst, an Tomatenblättern verursacht (z. B. Thomas, 1948).

In der Folgezeit fließen die nekrotischen Felder rasch zusammen, und die bis dahin turgeszente Spreite der einzelnen Fiederchen beginnt sich vom Rande her einzurollen und nekrotisch welk zu werden, in den Abb. 3–6 liegt zwischen dem Auftreten der ersten Nekrosen und dem Einrollen der Blattränder meist eine Zeitspanne von nur 4—5, ausnahmsweise bis 12 Stunden. Wenn also die Schädigungsschwelle, die zu visuell erkennbaren Nekrosen führt, einmal überschritten ist, so gehen die Blattgewebe einem raschen Zerfall entgegen, auch in dieser starken nekrogenen Wirkung kommt die höhere Toxizität der Alternariasäure gegenüber dem Lycomarasmin zum Ausdruck.

Stengel und Blattstiele bleiben bei der Alternariasäure, wie beim Lycomarasmin und beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex, die ganze Zeit über turgeszent, das Schlußbild der Alternariasäure-Welke sieht deshalb ähnlich aus wie bei der Lycomarasminvergiftung: Ein straffer Sproß trägt an straffen Blattstielen schlaffe Fiederblättchen; man vergleiche die vorliegende Abb. 8 mit der Abbildung der Lycomarasminwelke bei Gäumann, 1951, Abb. 424: Die beiden Krankheitsbilder sehen sich vollkommen ähnlich.

Zusammenfassung

1. Die Störungen, die der Lycomarasmin-Eisen-Komplex bei der Wasseraufnahme und der Transpiration der Tomatensprosse hervorruft, decken sich vollständig mit jenen, die das reine Lycomarasmin auslöst: nach der Applikation des Giftes setzt in beiden Fällen zunächst eine Depression der Wasseraufnahme und der Transpiration ein (Schockphase), auf die eine unverhältnismäßig starke Übersteigerung beider Funktionen folgt; also steht von dieser Seite her der Annahme nichts im Wege, daß das Lycomarasmin sich tatsächlich im Wirtsinnern in den Lycomarasmin-Eisen-Komplex umsetzt.

2. Die Alternariasäure, die u. a. von der *Alternaria solani* gebildet wird, ruft ähnliche Störungen der Wasseraufnahme und der Transpiration hervor wie das Lycomarasmin und der Lycomarasmin-Eisen-Komplex, jedoch schon in weit stärkeren Verdünnungen als diese; sie ist somit ein noch stärkeres Transpirationsgift als das Lycomarasmin.

Literaturverzeichnis

Brian, P. W., Curtis, P. J., Hemming, H. G., Unwin, C. H. and Wright, J. M., 1949. Alternaric acid, a biologically active metabolic product of the fungus *Alternaria solani* (Nature, **146**, S. 534).

— —, and Wright, J. M., 1950. An antifungal and phytotoxic metabolic product of the plant-pathogenic fungus *Alternaria solani* (Abstract VII. Internat. Bot. Congress Stockholm 1950, mimeographed copy).

Darpoux, H., Faivre-Amiot, A. et Roux, L., 1950. Sur un nouvel antibiotique, l'Alternarine, et sur quelques autres substances extraites de cultures d'une souche d'*Alternaria solani* (C. r. Ac. sc. Paris, **230**, 993—995.)

Gäumann, E., 1951. Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. (Birkhäuser, Basel, 681 S.)

—, — und Jaag, O., 1946. Über das Problem der Welkekrankheiten bei Pflanzen. (Experientia, **2**, 215—220.)

—, — und —, —, 1947. Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens I—III. (Ber. Schweiz. Bot. Ges., **57**, 3—34, 132—148, 227—241.)

—, —, Naef-Roth, St. und Miescher, G., 1950. Untersuchungen über das Lycomarasmin. (Phytopath. Zschr., **16**, 257—288.)

Thomas, H. R., 1948. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium on susceptibility of tomatoes to *Alternaria solani*. (Journ. Agr. Res., **76**, 289—306.)

Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Über die Bildung von Zellulase bei pathogenen Mikroorganismen

Von

Alfred Ammann

Mit 6 Abbildungen

Inhaltsübersicht: Einleitung. — 1. Kapitel: Wirkungsmechanismus und Verbreitung adaptiver Enzyme. — 2. Kapitel: Theorien über den enzymatischen Zelluloseabbau. — 3. Kapitel: Material und Methoden, a) Nachweis der Zellulase, b) Nährlösungen, c) pH-Bestimmungen, d) Myzelgewichtsbestimmungen, e) Testmaterial. — 4. Kapitel: Einfluß der Ernährung auf die Zellulasebildung, A) Versuche mit Pilzen, a) *Aspergillus niger* v. Tiegh., b) *Trichoderma viride* Pers., c) Diskussion, d) verschiedene Pilze, e) Weiß- und Rotfäuleerreger, B) Versuche mit Bakterien, a) *Bacterium carotovorum* (Jon.) L. et N., b) *Escherichia coli* (Mig.) Cast. und *Staphylococcus aureus* Rosenb. — 5. Kapitel: Einfluß der Temperatur auf die Zellulasebildung, a) bei *Aspergillus niger* v. Tiegh., b) bei *Penicillium luteum* Zuk. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Es ist bekannt, daß die Ernährung eines Mikroorganismus für die Bildung seiner Enzyme von großer Bedeutung ist. Je nach Ernährungsbedingungen, unter welchen er seine Fermente bildet, werden diese in konstitutive und adaptive Enzyme eingeteilt (Karström, 1938).

Die konstitutiven Enzyme werden immer gebildet. Ihre Entstehung ist daher im Prinzip unabhängig von der chemischen Zusammensetzung des Nährsubstrates. Sie können allerdings durch bestimmte Stoffe quantitativ gesteigert werden; doch ist diese Steigerung auf andere ernährungsphysiologische Ursachen zurückzuführen, als auf die Wirkung des spezifischen Substrates, wie sie bei den adaptiven Fermenten erfolgt.

Die adaptiven Enzyme, die von einem Mikroorganismus nur bei Bedarf gebildet werden, d. h. deren Bildung auf die chemische Wirkung des spezifischen Nährsubstrates zurückzuführen ist, werden von Karström (1938) in die drei folgenden Gruppen eingeteilt:

1. Die echt adaptiven Enzyme, die ein Mikroorganismus nur dann zu produzieren vermag, wenn er in Gegenwart des spezifischen Nährsubstrates gewachsen ist.

2. Die nicht ausgeprägt adaptiven Enzyme, die ein Mikroorganismus in der Regel immer in kleinen Mengen produziert, die aber eine kräftige Mehrproduktion erfahren, wenn der Mikroorganismus in Gegenwart des entsprechenden Substrates gewachsen ist.
3. Die durch „langsame" Adaptation in einem Mikroorganismus gebildeten Enzyme, deren Bildung auf die Variabilität der Mikroorganismen und auf natürliche Auswahl der in Gegenwart des spezifischen Substrates vermehrungsfähigen Varianten des Organismus zurückzuführen ist.

Die dritte Gruppe interessiert uns jedoch im Zusammenhang mit dieser Arbeit nicht.

Nach YUDKIN (1938) regt das entsprechende Substrat nicht die Bildung eines neuen Enzymes an, sondern veranlaßt nur die erhöhte Bildung eines Fermentes, das auch ohnehin in kleinsten Mengen gebildet worden wäre. Der Unterschied zwischen konstitutivem und adaptivem Charakter wäre demnach nur quantitativer Natur, während nach KARSTRÖMS Einteilung auch ein qualitativer möglich ist, da letzterer ausgeprägt adaptive Enzyme von nicht ausgeprägten trennt.

Das Institut für spezielle Botanik an der ETH beschäftigt sich seit einiger Zeit mit dem Problem der adaptiven Enzyme, mit dem Ziel, auf Grund solcher Fermente für die durch Wirtspassagen ausgelösten Verschiebungen der parasitischen Eignung der Mikroorganismen eine Erklärung zu finden (GÄUMANN, 1951, S. 306 u. f.).

Die folgenden Untersuchungen, die der Zellulase gewidmet sind, bilden die Fortsetzung der Arbeiten von GÄUMANN und BÖHNI (1947a, 1947b) und GÄUMANN und NEF (1947) über pektinspaltende Fermente.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß der Ernährung auf die Zellulasebildung einiger Pilze und Bakterien untersucht, mit dem Hauptziel, abzuklären, ob die Zellulase konstitutiven oder adaptiven Charakter zeigt. Daneben wurden einige Probleme von allgemein pflanzenpathologischem Interesse behandelt. Im zweiten Teil wurde versucht, den Einfluß der Temperatur auf die Zellulasebildung abzuklären.

1. Kapitel

Wirkungsmechanismus und Verbreitung adaptiver Enzyme

Um den Wirkungsmechanismus eines adaptiven Enzymes zu erklären, nimmt YUDKIN (1938) an, daß das adaptive Ferment irgendwie in einem Gleichgewicht mit einer Vorstufe steht. Wenn es sich mit dem spezifischen Nährstoff verbindet, so wird dieses Gleichgewicht gestört und die Vorstufe baut entsprechend mehr Enzym auf.

SPIEGELMAN, REINER und COHNBERG (1947) glauben hingegen, daß das adaptive Enzym als Ganzes bereits in den Zellen vorhanden ist, aber in einer inaktiven Form. Die Adaptation besteht von ihrem Gesichtspunkt aus betrachtet nicht in einer Synthese von etwas Neuem, sondern nur in einer Aktivierung von etwas schon Vorhandenem.

Weitere Theorien sind z. B. in der Arbeit von SPIEGELMAN und REINER (1947) erwähnt.

Der Wirkungsmechanismus kann nun aber nicht nur durch das spezifische Substrat, sondern auch durch dessen Spaltprodukte ausgelöst werden, wie z. B. die Versuche von PHAFF (1947) zeigen. Er fand bei *Penicillium chrysogenum* Thom, daß die Pektase, welche die Pektine demethoxyliert, und die Pektinase, welche die glykosidischen Bindungen der partiell veresterten Polygalakturonsäure spaltet, bei Prüfung von ungefähr 50 Kohlehydraten nur in Gegenwart von Pektin, Pektinsäure, d-Galakturonsäure, Schleimsäure, l-Galaktonsäure oder Traganthgummi gebildet werden. Pektase und Pektinase sind in diesem Fall sicher adaptive Enzyme. Die Definition KARSTRÖMS könnte daher dahin erweitert werden, daß auch die Spaltprodukte des spezifischen Substrates als Ursache einer adaptiven Fermentbildung in Frage kommen.

Über die Verbreitung adaptiver respektive konstitutiver Enzyme bei Blütenpflanzen und Bakterien finden sich z. B. bei GÄUMANN und BÖHNI

Tabelle 1

Vorkommen und Charakter einiger Pilzenzyme

Literaturangabe	Name des Pilzes	Name des Enzymes	Charakter des Enzymes
WENT, 1901	*Monilia sitophila* (Mont.) Sacc.	Diastase	k
		Invertase	k
		Tyrosinase	k
		Trypsin	a
		Labenzym	a
KYLIN, 1914	*Aspergillus niger* v. Tiegh.	Invertase	a
		Diastase	a
		Maltase	a
	Penicillium glaucum Lk.	Invertase	a
		Diastase	a
		Maltase	a
SCHENKER, 1921	*Aspergillus niger* v. Tiegh.	Lipase	a
PRINGSHEIM und KOHN, 1924	*Aspergillus niger* v. Tiegh.	Inulase	a
GÄUMANN und BÖHNI, 1947 a	*Botrytis cinerea* Pers.	Pektinase	k
		Pektase	a
GÄUMANN und BÖHNI, 1947 b	*Aspergillus niger* v. Tiegh.	Pektinase	k
		Pektase	a
PHAFF, 1947	*Penicillium chrysogenum* Thom	Pektinase	a
		Pektase	a
SPIEGELMAN, REINER und MORGAN, 1947	*Saccharomyces cerevisiae* Hans.	Galaktozymase	Apoenzym a Koenzym k

a = adaptiv k = konstitutiv

(1947a) Literaturangaben. Tabelle 1 gibt über Vorkommen und Charakter einiger Pilzenzyme Auskunft. Sie erhebt jedoch keinesfalls Anspruch auf Vollständigkeit.

Da aus den aufgeführten Arbeiten meistens nicht hervorgeht, ob es sich um ein ausgeprägt oder nicht ausgeprägt adaptives Enzym handelt, wurde in Tabelle 1 diese Unterscheidung ebenfalls nicht gemacht.

Bemerkenswert ist, wie aus Tabelle 1 ersichtlich, daß das gleiche Enzym bei einem Pilz adaptiven Charakter besitzt, währenddem es bei anderen konstitutiv gebildet wird. So ist z. B. die Pektinase von *Penicillium chrysogenum* Thom adaptiv, bei *Botrytis cinerea* Pers. und *Aspergillus niger* v. Tiegh. hingegen konstitutiv.

2. Kapitel

Theorien über den enzymatischne Zelluloseabbau

Eine ausführliche Übersicht über die bis heute durchgeführten enzymatischen Zelluloseabbauversuche findet sich z. B. in der Arbeit von Norkrans (1950).

Auf Grund der bisherigen Untersuchungen wurden drei Theorien über den enzymatischen Zelluloseabbau aufgestellt:

a) Die „klassische" Theorie

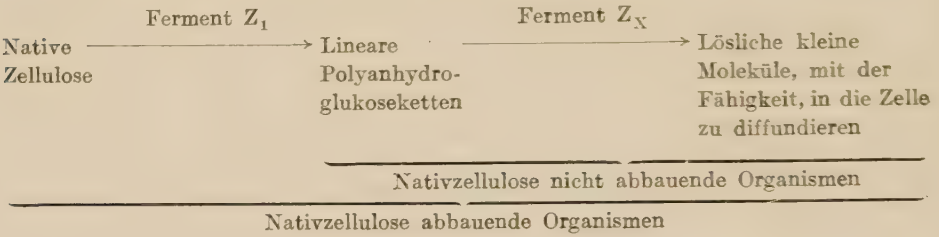
Die „klassische" Ansicht über den enzymatischen Zelluloseabbau ist die, daß mit Hilfe eines einzigen extrazellular wirkenden Enzymes, der Zellulase, die Zellulose hydrolysiert wird. Dabei entsteht Zellobiose, welche mittels Zellobiase zu Glukose zerlegt wird (z. B. Pringsheim, 1912). Die Glukose wird dann mit Hilfe oxydativer Fermente zu Endprodukten zerlegt, die je nach Organismus ganz verschiedenen Charakter haben.

Eine Abweichung von dieser Ansicht ergibt sich aus den Versuchen von Grassmann und seinen Mitarbeitern (1933). Nach ihnen ist die Zellobiase nicht nur aktiv gegen Zellobiose, sondern auch gegen Zellotriose, -tetraose und -hexaose, während die Zellulase Zellulose, Zellodextrin, bis zu einem gewissen Grade auch Zellotetraose und -triose, nicht aber Zellobiose anzugreifen vermag.

b) Die heutige Theorie

In neuester Zeit zeigt sich immer mehr, daß die Zellulose außer den in der Längsrichtung vorhandenen, durch die „klassische" Zellulase spaltbaren 1,4 β-Bindungen noch Brücken anderer Art zwischen den Ketten besitzt (Pacsu, 1947, Hess und Steurer, 1940, Haworth, 1939). Um auch diese Brücken der Zellulose spalten zu können, muß ein Organismus außer der Zellulase im „klassischen" Sinn noch über weitere zelluloselösende Fermente verfügen. Nach Reese, Siu und Levinson (1950) sind für den

Abbau nativer Zellulose zwei Enzyme notwendig (vgl. auch LEVINSON und REESE, 1950). Der Abbau geht nach ihnen über folgende Stufen:



Diese Abbautheorie fußt auf der Tatsache, daß die oben genannten Forscher in ihren Versuchen neben Nativzellulose angreifenden Organismen auch solche fanden, die nur die 1,4 β-Bindungen, z. B. die der Zelluloseäther. zu spalten vermochten. Mit anderen Worten sind diese Organismen nicht fähig, das Ferment Z_1 zu bilden, welches im Gegensatz zum Ferment Z_X, um dies noch einmal zu betonen, andere als die 1,4 β-Bindungen der Zellulose abbaut.

c) Die Oxydationstheorie

Die von WINOGRADSKY (1929) und später von anderen Forschern gestützte Theorie (weitere Literaturangaben bei FÅHRAEUS, 1947), daß der erste Angriff der Mikroorganismen auf die Zellulose oxydativer Natur sei, dürfte kaum zutreffen. Diese Theorie wurde durch Versuche von FÅHRAEUS (1947) und auch in den Arbeiten von NORD und VITUCCI (1948) und NORMAN und FULLER (1942) widerlegt.

3. Kapitel

Material und Methoden

a) Der Nachweis der Zellulase

Auf Grund der im zweiten Kapitel dargestellten chemischen Voraussetzungen mußte eine Methode gefunden werden, mit deren Hilfe der enzymatische Zelluloseabbau verfolgt werden kann. In der Literatur sind eine Anzahl solcher Methoden beschrieben worden. KARRER und seine Mitarbeiter (z. B. 1925), sowie GRASSMANN und Mitarbeiter (z. B. 1933), verwendeten bei ihren Versuchen die Aldehydendgruppenbestimmung, d. h. sie bestimmten die beim enzymatischen Zelluloseabbau auftretende Zunahme der reduzierenden Zucker. SAUNDERS und Mitarbeiter (1948) bestimmten die Gewichtsabnahme, GREATHOUSE, KLEMME und BARKER (1942) die Reißfestigkeitsabnahme, ZIESE (1931) sowie LEVINSON und REESE (1950) die Viskositätsabnahme der zugesetzten Zellulosen, während NORKRANS (1950) die Zellulaseaktivität photometrisch bestimmte.

Als Substrate für die Enzymbestimmungen wurden die verschiedensten Zellulosequellen, wie Filtrierpapier, Watte, umgefällte Zellulose verwendet. Der Nachteil all dieser Substrate ist, daß sie äußerst langsam angegriffen werden.

Da es sich in der vorliegenden Arbeit darum handelte, einerseits das Enzym möglichst rasch nachzuweisen und anderseits möglichst kleine Enzymmengen zu erfassen, wurde als Substrat für die Enzymbestimmungen leicht angreifbare Methylzellulose, ein wasserlöslicher Zelluloseäther mit erheblicher Viskosität, verwendet. Zu betonen ist, daß mit Hilfe dieses Substrates, sofern die Theorie von Reese, Siu und Levinson (1950) richtig ist, nur das die 1,4 β-Bindungen spaltende Ferment Z_X nachgewiesen werden kann. Weiter ist zu bemerken, daß nur die Exoenzyme, also die in die Nährlösung ausgeschiedenen Fermente berücksichtigt wurden.

Für alle Versuche wurde immer die gleiche Methylzellulose verwendet. Sie wurde durch Vermittlung der Thiele & Co. A.G. in Basel von der Dow Chemical Company, Midland, Michigan, USA, als Methocel-Powder (pharmaceutical grade, viscosity 400 centipoises) bezogen. Über ihre chemischen und physikalischen Eigenschaften finden sich z. B. bei Haskins (1946) Angaben.

Wirkt Zellulase, wie das Ferment Z_X der Einfachheit halber von jetzt an benannt wird, auf eine wässerig visköse Methylzelluloselösung ein, so werden nach einer gewissen Zeit die Methylzelluloseketten gespalten und die Viskosität des Reaktionsgemisches nimmt ab. Durch Messung dieser Abnahme im Höppler-Kugelfallviskosimeter kann die Zellulaseaktivität berechnet werden.

Praktisch wird der Nachweis wie folgt durchgeführt:

Man stellt eine 1 %ige Methylzelluloselösung her. Um für alle Versuche möglichst gleich konzentrierte Lösungen zu erhalten, wird das Methylzellulosepulver immer lufttrocken abgewogen. Die Lösung wird am besten in einem elektrischen Mischgerät (z. B. „Turmix") hergestellt und nachher bis zum völligen Verschwinden des beim Mischen entstehenden Schaumes in die Kühle gestellt. Vor Gebrauch wird die Lösung durch einen G 2 Glasfiltertiegel abfiltriert.

Zu 15 ccm dieser 1 %igen Methylzelluloselösung werden 15 ccm Azetatpuffer (45 g Natriumazetat und 10 ccm Eisessig auf 1000 ccm aqua dest.), sowie 30 ccm enzymhaltiges Kulturfiltrat gegeben. Dieses Reaktionsgemisch, in der Folge mit A bezeichnet, wird 20 Stunden bei 37 ° C und pH 5,1 gehalten. Während dieser Zeit wird ein der Zellulaseaktivität entsprechender Teil der Methylzellulose gespalten. Zur Charakterisierung der Viskosität dieser Lösung wird die spezifische Viskosität η_{sp} gewählt.

η_{sp} des Reaktionsgemisches A ist aber $= \dfrac{\eta_a - \eta_c}{\eta_c} = \dfrac{t_a - t_c}{t_c}$, wobei η_a die Viskosität des abgebauten Methylzellulosegemisches bedeutet, sie ist proportional der Fallzeit t_a der Kugel im Höppler-Viskosimeter. η_c bedeutet

Viskosität des Lösungsmittels (Wasser und Zusätze), sie ist proportional der Fallzeit t_c der Kugel. Die spezifische Viskosität wird also auf Grund jener Durchlaufzeit berechnet, welche das Reaktionsgemisch A erreichen würde, wenn die 15 ccm Methylzellulose durch die Zellulase zu Bestandteilen abgebaut worden wäre, welche die gleiche Durchlaufszeit wie Wasser haben. Dazu dient folgende Kontrollflüssigkeit — das Reaktionsgemisch C. Es enthält:

15 ccm aqua dest.,
15 ccm Azetatpufferlösung,
30 ccm enzymhaltiges Kulturfiltrat.

Dieses Reaktionsgemisch wird ebenfalls 20 Stunden bei 37° C und pH 5,1 gehalten. Zur Verhinderung von Infektionen wird jedem Reaktionsgemisch ein Thymolkristall zugefügt. Zum Abstoppen der Enzymwirkung im Reaktionsgemisch A nach 20 Stunden, sowie zur Vereinheitlichung der Salzkonzentrationen in den beiden Reaktionsgemischen werden diese mit 10 ccm 1n NaOH versetzt. Diese läßt man zwei Stunden einwirken. Dabei entstehen in den Reaktionsgemischen für das Viskosimetrieren unerwünschte Niederschläge, wahrscheinlich handelt es sich dabei um Hydroxyde, die durch Zusatz von 10 ccm 1n HCl vor dem Messen wieder zum Verschwinden gebracht werden.

Die spezifische Viskosität, die wir nach einer Abbauzeit von 20 Stunden erhalten : $\eta_{sp20} = \frac{t_a - t_c}{t_c}$, drücken wir in Prozenten der spezifischen Viskosität aus, welche zu Beginn, vor der Einwirkung der enzymhaltigen Nährlösung bestand : $\eta_{sp0} = \frac{t_b - t_c}{t_c}$. Dazu brauchen wir eine weitere Kontrollösung — das Reaktionsgemisch B. Es enthält:

15 ccm Methylzelluloselösung,
15 ccm Azetatpufferlösung,
30 ccm inaktiviertes enzymhaltiges Kulturfiltrat.

Wenn dieses Reaktionsgemisch, wie die oben erwähnten Reaktionsgemische A und C, ebenfalls 20 Stunden bei 37° C und pH 5,1 gehalten wird, und die 10 ccm 1n NaOH sowie die 10 ccm 1n HCl nach 20 respektive 22 Stunden beigegeben werden, so zeigt sich, daß ein gewisser Abbau auftritt (vgl. Ergebnisse des Reaktionsgemisches Bw mit denjenigen der Reaktionsgemische Bx, By und Bz in Tabelle 2), obwohl das Kulturfiltrat zur Abtötung des Enzymes 15 Minuten lang am Rückflußkühler gekocht wurde. Es ist daraus zu schließen, daß die Zellulase ziemlich hitzebeständig ist, eine Tatsache, die auch ZIESE (1931) in seiner Arbeit bestätigt.

Um die spezifische Anfangsviskosität zu bestimmen, muß daher ein anderer Weg eingeschlagen werden. Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, bestehen drei die gleichen Ergebnisse zeitigenden Möglichkeiten:

1. Das Reaktionsgemisch B wird sofort gemessen (Reaktionsgemisch Bx in Tabelle 2).
2. Das Reaktionsgemisch B wird mit 10 ccm 1n NaOH inkubiert (Reaktionsgemisch By in Tabelle 2).
3. Dem Reaktionsgemisch B werden die 30 ccm inaktiviertes Kulturfiltrat, sowie die 10 ccm 1n NaOH erst nach 20 Stunden beigegeben (Reaktionsgemisch Bz in Tabelle 2).

Aus praktischen Gründen wurde die spezifische Anfangsviskosität nach dem Mischungstypus des Reaktionsgemisches Bz bestimmt.

Alle drei Reaktionsgemische (A, B und C) werden vor dem Messen mit destilliertem Wasser bis zur Marke von 100 ccm Präzisionsmeßkolben aufgefüllt, und die Lösungen durch G 3 Glasfiltertiegel filtriert, um möglichst klare Flüssigkeiten zu erhalten.

Die Messungen im HÖPPLER-Viskosimeter erfolgen bei 20,0 ° C.

Tabelle 2

Die Durchlaufzeiten der Kugel in den Reaktionsgemischen B, wenn diesen zu verschiedenen Zeitpunkten die einzelnen Lösungen beigegeben werden
(Erklärungen im Text)

Reaktionsgemisch	Art und Menge der zuzugebenden Lösungen	Zeitpunkt der Zugabe der verschiedenen Lösungen	Durchlaufzeiten der Kugel in Sekunden (je drei Parallelen)
Bw	15 ccm MZ	sofort	
	15 ccm PL	sofort	163,8
	30 ccm IA	sofort	162,5
	10 ccm NaOH	nach 20 Std.	164,0
	10 ccm HCl	nach 22 Std.	
Bx	15 ccm MZ	sofort	
	15 ccm PL	sofort	175,9
	30 ccm IA	sofort	176,4
	10 ccm NaOH	sofort	175,4
	10 ccm HCl	sofort	
By	15 ccm MZ	sofort	
	15 ccm PL	sofort	173,8
	30 ccm IA	sofort	173,0
	10 ccm NaOH	sofort	173,5
	10 ccm HCl	nach 22 Std.	
Bz	15 ccm MZ	sofort	
	15 ccm PL	sofort	175,4
	30 ccm IA	nach 20 Std.	174,7
	10 ccm NaOH	nach 20 Std.	176,3
	10 ccm HCl	nach 22 Std.	

MZ = 1%ige Methylzelluloselösung
PL = Azetatpufferlösung
IA = inaktiviertes enzymhaltiges Kulturfiltrat
NaOH = 1-normale Natronlauge
HCl = 1-normale Salzsäure

Obwohl die verwendeten Kulturfiltrate wegen ihres verschiedenen Alters in ihren stofflichen Zusammensetzungen, die auf die Viskosität großen Einfluß haben können, stark schwanken, zeigte es sich in den ersten Versuchen, wie aus Tabelle 3 hervorgeht, daß die um 90 Sekunden liegenden Durchlaufzeiten t_c der Reaktionsgemische C trotzdem nur sehr kleine Zeitunterschiede von 1 bis 3 Sekunden aufwiesen. Da solch kleine Unterschiede auf die Berechnung der Zellulaseaktivität praktisch keinen Einfluß haben, konnte die Durchlaufzeit t_c des Reaktionsgemisches C für alle Versuche auf 90,0 Sekunden festgelegt werden.

Tabelle 3

Einfluß verschieden alter Kulturfiltrate von *Trichoderma viride* Pers. auf die Durchlaufzeiten der Kugel in den Reaktionsgemischen C

Alter des Kulturfiltrates in Tagen	Mittlere Durchlaufzeit der Kugel in Sekunden
3	90,8 ± 0,2
6	90,1 ± 0,7
9	90,6 ± 0,7
12	90,2 ± 0,2
15	89,9 ± 0,3
20	90,3 ± 0,4
25	90,0 ± 0,2
30	89,9 ± 0,1

Die in Tabelle 3 angegebenen Zahlen sind Teilergebnisse aus dem Versuch 5, der im folgenden Kapitel beschrieben wird.

Wie die Zellulaseaktivität berechnet wird, soll am folgenden Beispiel erläutert werden:

Versuchsfrage: Wie groß ist die mittlere Zellulaseaktivität eines 12 Tage alten Kulturfiltrates von *Trichoderma viride* Pers. (bestimmt aus 5 verschiedenen Kolben), wenn dem Pilz zu Beginn des Versuches in der Nährlösung 1 % Glukose und 1 % Zellulose als Kohlenstoffquellen zur Verfügung stehen?

Versuchsanordnung: Vergleiche Versuch 5.

Ausführung der Aktivitätsbestimmungen: Zunächst werden für die Kolben 1 bis 5 die Durchlaufzeiten t_a, t_b und t_c für die entsprechenden Reaktionsgemische A, B und C gemessen. Sie sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4

Durchlaufzeiten der Kugel in den Reaktionsgemischen A, B und C, bei Verwendung eines 12 Tage alten Kulturfiltrates von *Trichoderma viride* Pers. (je 5 Parallelen)

Kolben	Durchlaufzeiten der Kugel in Sekunden für die Reaktionsgemische		
	A	B	C
	t_a	t_b	t_c
1	142,9	166,2	90,2
2	147,0	167,2	90,5
3	147,9	165,2	89,9
4	148,0	166,4	90,2
5	143,2	164,5	90,1

Aus den in Tabelle 4 angegebenen Zahlen wird die spezifische Viskosität nach 20 Stunden in Prozent der spezifischen Anfangsviskosität wie folgt berechnet:

$$\frac{t_b - t_c}{t_c} : 100\% = \frac{t_a - t_c}{t_c} : x\%$$

$$x = \frac{t_a - t_c}{t_b - t_c} \cdot 100\%$$

Für Kolben 1 z. B.:

$$x = \frac{142{,}9 - 90{,}2}{166{,}2 - 90{,}2} \cdot 100\%$$

$$x = 69{,}3\%$$

In den folgenden Tabellen und Abbildungen wird der Wert 100 % — x % als Größe der Zellulaseaktivität angegeben. Wir bezeichnen ihn kurz als %-Abbau.

Der Prozentabbau für die Kolben 1 bis 5 lautet somit:

Kolben 1	30,7 %
„ 2	26,3 %
„ 3	23,0 %
„ 4	24,1 %
„ 5	28,6 %

Der mittlere Prozentabbau ist = 26,5 % ± 3,2.

b) Nährlösungen

Für die Versuche mit Pilzen wurde modifizierte Meyer'sche Nährlösung (Blumer, 1944) verwendet. Sie hat folgende Zusammensetzung:

KH_2PO_4	1,0	g
NH_4NO_3	1,0	g
$MgSO_4$	0,3	g
$CaCl_2$	0,1	g
NaCl	0,1	g
$FeCl_3$	0,01	g
$MnCl_2$	0,01	g
$ZnSO_4$	0,001	g
$CuSO_4$	0,0001	g
aqua dest.	1000	ccm

Die Kohlenstoffquellen und allfällige andere Beigaben werden bei den einzelnen Versuchen angegeben.

Tabelle 5

Name, Herkunft und allfällige Literaturangaben über die Zelluloseabbaufähigkeit der verwendeten Pilze und Bakterien

Name des Mikroorganismus	Herkunft	Zellulose-abbau	Literaturangabe
Aspergillus niger v. Tiegh.	ATCC 9642	+	NORMAN, 1931
		+ —	THAYSEN und BUNKER, 1927
		—	PAINE, 1927, WHITE, SIU und REESE, 1948
Botrytis cinerea Pers.	VAW 38	+ —	THAYSEN und BUNKER, 1927
Coniophora cerebella (Pers.) Schroet.	CBS	+	THAYSEN und BUNKER, 1927, NORD und VITUCCI, 1948
Fusarium oxysporum Schlecht.	ATCC 659	+	WHITE, DARBY, STECHERT und SANDERSON, 1948
Gibberella Fujikuroi (Saw.) Woll. (Maisstamm)	ETH 6062		
Helminthosporium sativum P. K. et B.	ETH 5507		
Mucor Ramannianus Moell.	ETH 4087	—	PAINE, 1927
Myrothecium verrucaria (Alb. and Schw.) Ditm. ex Fr.	ATCC 9095	+	SAUNDERS, SIU und GENEST, 1948
Penicillium luteum Zuk.	ETH 4927	+ —	THAYSEN und BUNKER, 1927, WHITE, DARBY, STECHERT und SANDERSON, 1948
Polyporus adustus (Willd.) Fr.	CBS	+	CAMPBELL, 1932
Polyporus sulphureus (Bull.) Fr.	CBS	+	GARREN, 1938
Polyporus vaporarius Pers.	CBS	+	NORD und VITUCCI, 1948
Polystictus versicolor L.	CBS	+	THAYSEN und BUNKER, 1927, CAMPBELL, 1930
Schizophyllum commune Fr.	CBS		
Stereum purpureum Pers.	CBS	+	LUTZ, 1934
Trametes radiciperda Hart.	CBS	+	FALCK, 1926, NORD und VITUCCI, 1948
Trametes serialis Fr.	CBS		
Trichoderma viride Pers.	ETH 4889	+	THAYSEN und BUNKER, 1927, NORMAN, 1931, BLUMER, 1944, WHITE, DARBY, STECHERT und SANDERSON, 1948
Bacterium carotovorum (Jon.) L. et N.	ATCC 8061		
Escherichia coli (Mig.) Cast.	ETH 2018		
Staphylococcus aureus Rosenb.	ATCC 6538 P		

\+ = Zelluloseabbau
\+ — = Zelluloseabbau je nach untersuchtem Stamm positiv oder negativ
— = Kein Zelluloseabbau
ATCC = American Type Culture Collection, Washington D.C.
CBS = Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Holland
ETH = Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich
VAW = Eidg. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil

Für die Bakterienversuche wurde DIFCO Bacto Nutrient Broth No. B3 mit einem Zusatz von 1 % Glukose verwendet. Herstellung der DIFCO-Bouillon:

DIFCO Bacto Nutrient Broth . . .	8,0	g
Glukose	10,0	g
KOH 1-normal	3,0	ccm
aqua dest.	1000	ccm

Alle Nährlösungen wurden zum Zwecke der Sterilisation 20 Minuten lang bei 120 ° C autoklaviert.

c) pH-Bestimmungen

Die pH-Bestimmungen wurden mit Indikatorpapier Marke Lyphan auf 0,2 pH-Einheiten genau durchgeführt.

d) Myzelgewichtsbestimmungen

Das Pilzmyzel wurde in tarierten Filtern aufgefangen, mit destilliertem Wasser von 50 ° C gründlich ausgewaschen, bei 60 ° C über Nacht vorgetrocknet, hernach bei 103 ° C absolut getrocknet und zurückgewogen.

Wenn nichts anderes angegeben ist, entsprechen alle Zahlen dieser Arbeit dem arithmetischen Mittel aus 5 Parallelen. In den Tabellen sind überdies die Streuungen angegeben, welche nach der Formel

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^{N} (x_i - \bar{x})^2}$$

(LINDER, 1945) berechnet wurden.

e) Testmaterial

Art, Herkunft, sowie allfällige Literaturangaben über Zelluloseabbaufähigkeiten der verwendeten Pilze und Bakterien sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

4. Kapitel

Einfluß der Ernährung auf die Zellulasebildung

A) Versuche mit Pilzen

In den folgenden Abschnitten a) und b) wurde versucht, abzuklären, ob die Zellulase bei *Aspergillus niger* v. Tiegh. und *Trichoderma viride* Pers. adaptiven oder konstitutiven Charakter besitzt.

a) Versuche mit *Aspergillus niger* v. Tiegh.

Versuch 1

Versuchsfrage: In welchem Zeitmaß wachsen nach erfolgter Beimpfung einer Nährlösung mit nur Glukose als Kohlenstoffquelle das

Myzeltrockengewicht des Pilzes und die Menge der von ihm ausgeschiedenen Zellulase?

Versuchsanordnung: 40 ERLENMEYER-Kolben (500 ccm, Muranoglas) wurden mit je 200 ccm modifizierter MEYER'scher Nährlösung und 1 % Glukose beschickt, autoklaviert und mit je 1 ccm einer Sporensuspension von *Aspergillus niger* v. Tiegh. beimpft. Diese Sporensuspension enthielt ungefähr 710 000 Sporen je ccm. Die Kolben wurden im Dunkeln bei 24 ° C gehalten. In Intervallen von 3, später 5 Tagen, wurden während der Dauer eines Monats je 5 Kolben separat aufgearbeitet. Die Pilzmyzelgewichte, sowie die Zellulaseaktivitäten der Kulturfiltrate wurden nach den im dritten Kapitel beschriebenen Methoden bestimmt.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt und in Figur 1 veranschaulicht.

Tabelle 6

Der Ernteertrag (Myzeltrockengewicht) und die Zellulaseproduktion von *Aspergillus niger* v. Tiegh. in einer Glukose-haltigen Nährlösung

Tage nach Versuchsbeginn	Ernteertrag Myzeltrockengewicht mg	Wasserstoffionenkonzentration der Kulturflüssigkeit pH	Zellulose-%-Abbau
3	89 ± 18	3,5	55,0 ± 3,4
6	549 ± 26	2,6	72,5 ± 1,3
9	629 ± 31	2,6	76,5 ± 0,7
12	726 ± 15	2,5	76,6 ± 1,1
15	720 ± 9	2,5	75,1 ± 1,1
20	718 ± 25	2,5	75,5 ± 1,9
25	690 ± 12	2,5	74,2 ± 1,0
30	669 ± 11	2,5	71,8 ± 2,1

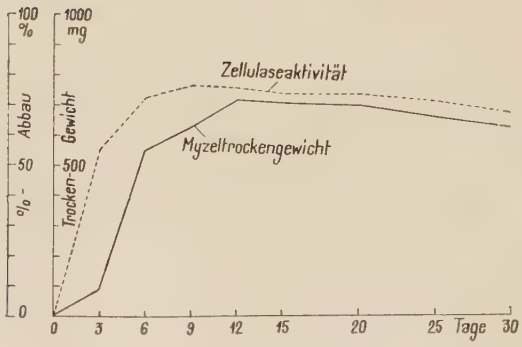


Abb. 1. Der Verlauf der Myzeltrockengewichte und der Zellulaseaktivitäten bei *Aspergillus niger* v. Tiegh., wenn als Kohlenstoffquelle nur Glukose geboten wird

Das Myzelgewicht steigt nach einer Anlaufzeit von ungefähr 3 Tagen steil an, und ungefähr 12 Tage nach Versuchsbeginn ist der Myzelzuwachs abgeschlossen. Gegen Ende der Versuchsperiode nimmt dann das Myzelgewicht wieder ab. Die Zellulase erscheint nach 3 Tagen in einer Aktivität von 55 % und steigt nach 9 bis 12 Tagen auf einen Höhepunkt von 76,5 %. Die Zellulaseaktivitäts- und die Myzelgewichtskurve laufen somit weitgehend parallel.

Versuch 2

Versuchsfrage: In welchem Zeitmaß wächst nach erfolgter Beimpfung einer Nährlösung die vom Pilz ausgeschiedene Zellulasemenge, wenn diesem als Kohlenstoffquellen Glukose und Zellulose zur Verfügung stehen?

Versuchsanordnung: Sie ist gleich wie in Versuch 1, mit dem Unterschied, daß der Nährlösung außer 1 % Glukose noch 1 % Zellulose in Form von hydrophiler Watte der Internationalen Verbandstoffabrik Schaffhausen zugegeben wurde. Die Sporensuspension enthielt wie in Versuch 1 ungefähr 710 000 Sporen je ccm.

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 7 und Abb. 2 ersichtlich.

Tabelle 7

Die Zellulaseproduktion von *Aspergillus niger* v. Tiegh. in einer Glukose- und Zellulose-haltigen Nährlösung

Tage nach Versuchsbeginn	Wasserstoffionenkonzentration der Kulturflüssigkeit pH	Zellulose-%-Abbau
3	3,5	46,1 ± 9,6
6	2,6	71,2 ± 0,9
9	2,6	72,1 ± 0,8
12	2,5	72,1 ± 0,6
15	2,5	73,0 ± 0,9
20	2,5	71,4 ± 0,7
25	2,5	72,9 ± 2,2
30	2,5	78,1 ± 0,7

Die Zellulase erscheint nach 3 Tagen in einer Aktivität von 46,1 % und steigt bis zum 30. Tag auf ein Maximum von 78,1 %. Die Zellulaseaktivitätskurve der glukose- und zellulosehaltigen Reihe stimmt weitgehend mit derjenigen der glukosehaltigen Reihe überein.

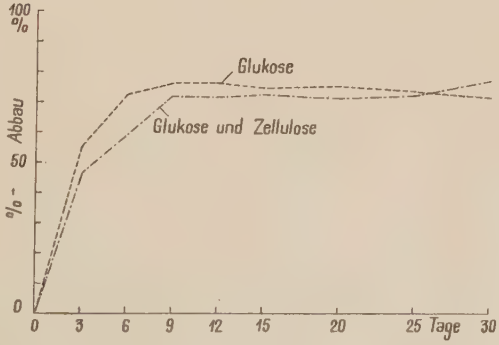


Abb. 2. Der Verlauf der Zellulaseaktivitäten bei *Aspergillus niger* v. Tiegh., wenn als Kohlenstoffquellen Glukose allein oder Glukose und Zellulose geboten werden

Versuch 3

Versuchsfrage: In welchem Zeitmaß wachsen nach erfolgter Beimpfung einer Nährlösung das Myzeltrockengewicht des Pilzes und die Menge der von ihm ausgeschiedenen Zellulase, wenn als Kohlenstoffquellen Glyzerin oder Mannit geboten werden?

Versuchsanordnung: Die Kohlenstoffquellen wurden der Nährlösung wie in Versuch 1 und 2 in einer Konzentration von 1 % zugegeben. Die Sporensuspension enthielt ungefähr 750 000 Sporen je ccm. Getestet wurde nur nach 3 und 10 Tagen. Die anderen Bedingungen waren gleich wie in Versuch 1.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengestellt.

Tabelle 8

Der Ernteertrag (Myzeltrockengewicht) und die Zellulaseproduktion von *Aspergillus niger* v. Tiegh., wenn als Kohlenstoffquellen Glukose, Glyzerin oder Mannit geboten werden

Gebotene Kohlenstoffquelle	Tage nach Versuchsbeginn	Ernteertrag Myzeltrockengewicht mg	Zellulose-%-Abbau
Glukose	3	89 ± 18	55,0 ± 3,4
	9	629 ± 31	76,5 ± 0,7
Glyzerin	3	9 ± 2	0,0
	10	315 ± 66	18,0 ± 4,9
Mannit	3	12 ± 1	0,0
	10	162 ± 22	Spur

Zum Vergleich sind in Tabelle 8 die Ergebnisse der 9 tägigen Kulturen der Glukosereihe mit angeführt. Sowohl bei Glyzerin als auch bei Mannit ist nach 3 Tagen bei sehr geringem Myzelwachstum noch keine Zellulase nachzuweisen, während sie bei Glukose, allerdings bei einem Myzelgewicht von 89 mg bereits in einer Aktivität von 55 % auftritt. Nach 10 Tagen ist im glyzerinhaltigen Kulturfiltrat die Aktivität bei einem Myzelgewicht von 315 mg auf 18 % angestiegen, während im Mannit-Versuch bei einem Myzelgewicht von 162 mg die Zellulase nur in Spuren nachzuweisen ist.

b) Versuche mit *Trichoderma viride* Pers.

Versuch 4

Die Versuchsfrage, sowie die Versuchsanordnung sind gleich wie in Versuch 1. Als Kohlenstoffquelle wurde der Nährlösung 1 % Glukose zugesetzt. Die Sporensuspension enthielt ungefähr 430 000 Sporen je ccm.

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 9 und Abb. 3 ersichtlich.

Tabelle 9

Der Ernteertrag (Myzeltrockengewicht) und die Zellulaseproduktion von *Trichoderma viride* Pers. in einer Glukose-haltigen Nährlösung

Tage nach Versuchsbeginn	Ernteertrag Myzeltrockengewicht mg	Wasserstoffionenkonzentration der Kulturflüssigkeit pH	Zellulose-%-Abbau
3	37 ± 11	4,2	Spur
6	204 ± 29	2,9	8,3 ± 2,0
9	192 ± 17	2,8	10,8 ± 1,6
12	216 ± 26	2,8	13,4 ± 1,2
15	347 ± 29	2,7	16,4 ± 1,4
20	348 ± 94	2,5	18,7 ± 1,1
25	338 ± 105	2,8	21,3 ± 1,8
30	281 ± 113	2,9	24,4 ± 5,4

Das Myzeltrockengewicht steigt nach einer ungefähr dreitägigen Anlaufperiode stark an. Das Maximum ist nach 15 bis 20 Tagen erreicht. Gegen das Ende der Versuchsperiode fällt das Myzelgewicht dann wieder leicht ab. Die Zellulaseaktivität steigt stetig an und erreicht erst am Ende der Versuchsperiode mit 24,4 % ihren Höhepunkt.

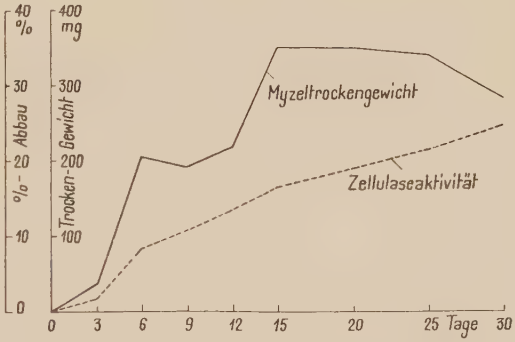


Abb. 3. Der Verlauf der Myzeltrockengewichte und der Zellulaseaktivitäten bei *Trichoderma viride* Pers., wenn als Kohlenstoffquelle nur Glukose geboten wird

Versuch 5

Die Versuchsfrage und die Versuchsanordnung sind gleich wie in Versuch 2, nur daß an Stelle von 1 % hydrophiler Watte und 1 % Glukose als Kohlenstoffquellen 1 % Glukose und 1 % Filtrierpapier (Faltenfilter LS 14½, Gewicht 2 g, Durchmesser 18,5 cm, L. Schleiffer, Feldmeilen am Zürichsee) zugegeben wurden. In jeden Kolben wurde 1 Faltenfilter mit der Spitze nach oben gesteckt, so daß ein Teil des Filters über die Flüssigkeitsoberfläche ragte. Die Sporensuspension enthielt ungefähr 475 000 Sporen je ccm.

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 10 und Abb. 4 ersichtlich.

Tabelle 10

Die Zellulaseproduktion von *Trichoderma viride* Pers. in einer Glukose- und Zellulose-haltigen Nährlösung

Tage nach Versuchsbeginn	Wasserstoffionenkonzentration der Kulturflüssigkeit pH	Zellulose-%-Abbau
3	4,8	8,0 ± 2,3
6	2,6	17,0 ± 4,7
9	2,6	22,4 ± 6,4
12	2,6	26,5 ± 3,2
15	2,6	22,9 ± 3,9
20	3,3	12,4 ± 3,1
25	3,8	18,3 ± 4,4
30	3,7	11,5 ± 3,2

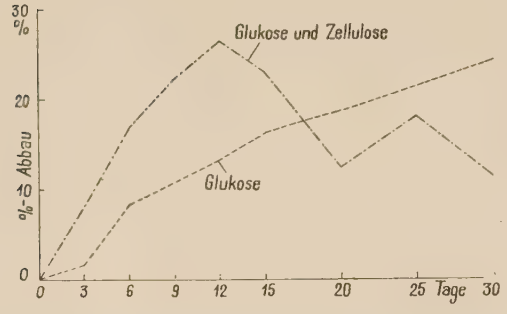


Abb. 4. Der Verlauf der Zellulaseaktivitäten bei *Trichoderma viride* Pers., wenn als Kohlenstoffquellen Glukose allein oder Glukose und Zellulose geboten werden

Die Zellulaseaktivität steigt stetig bis zu einem Maximum von 26,5 % am 12. Tage. Nachher fällt sie bis zum 30. Tage wieder bis auf 11,5 % zurück. Im ersten Zeitabschnitt der Versuchsperiode weisen die Aktivitäten der Glukose-Zellulose-Reihe gegenüber denjenigen der Glukose-Reihe etwas größere Werte auf. Im zweiten Abschnitt, ungefähr vom 20. Tage an, ist es gerade umgekehrt.

c) Diskussion der Ergebnisse aus den Versuchen 1 bis 5

Um festzustellen, ob bei Zugabe des spezifischen Substrates, in unserem Falle bei Zugabe von Zellulose, mehr Zellulase gebildet wird, müssen die Resultate einer glukosehaltigen Versuchsreihe mit denjenigen einer glukose- und zellulosehaltigen wirklich verglichen werden können. Dies ist aber nur möglich, wenn wir für jedes Kulturfiltrat die absolute, gebildete Zellulasemenge (die einer bestimmten Aktivität entspricht) je Einheit Myzelgewicht kennen. Die Berechnung dieser Größe stößt aber auf folgende Schwierigkeiten, die einen exakten Vergleich verschiedener Versuchsreihen ausschließen.

1. Die Myzelgewichtsbestimmungen in den zellulosehaltigen Kolben sind nicht durch einfaches Abfiltrieren der Myzelien zu bewerkstelligen, da die Zellulosequelle mit den Hyphen des Pilzes fest verflochten ist. Das Abtrennen der Zellulose auf chemischem Wege schließt

hohe Fehlerquellen ein und ist bei Serienuntersuchungen mit großem Zeitaufwand verbunden.

2. Messen wir nur die Aktivität der Zellulase; wir wissen also nicht, wieviel Zellulase (z. B. in Einheiten) einer bestimmten Aktivität entspricht. Da die Zunahme der Aktivität aber nicht linear mit zunehmender Enzymmenge steigt, sondern einem Exponentialgesetz gehorcht, ist es nicht möglich, einfach die Größe Aktivität, d. h. in unserem Fall %-Abbau, je Myzelgewichtseinheit zu berechnen. Dies wäre, um es praktisch zu veranschaulichen, nur statthaft, wenn für 50 %igen Abbau die doppelte Enzymmenge nötig wäre wie für 25 %igen Abbau. Wenn wir auch mit einem bestimmten Kulturfiltrat mittels Verdünnungen eine Kurve, aus welcher für eine bestimmte Aktivität die entsprechende Enzymmenge abgelesen werden kann, aufstellen, darf daraus für Vergleichszwecke kein Schluß auf die zu erwartende Enzymmenge gezogen werden. Die Zellulase ist in unseren Versuchen immer in einem Kulturfiltrat von unbekannter Zusammensetzung enthalten. Die Enzymwirkung fördernde respektive hemmende Stoffe sind in jedem Kulturfiltrat in ganz verschiedenen Mengen vorhanden. So kann z. B. 50 %iger Abbau auf große Enzymmenge und viele Hemmstoffe oder auf kleine Enzymmenge und wenig Hemmstoffe zurückgeführt werden. In diesem Zusammenhang sei darauf aufmerksam gemacht, daß sowohl Glukose (Fåhraeus, 1947) als auch im Kulturfiltrat vorhandene Säuren (Enebo und Lundin, 1944) einen hemmenden Einfluß auf die Wirkung der Zellulase ausüben. Aus diesen zwei Gründen, Nichtbestimmbarkeit des Myzelgewichts des Pilzes bei zellulosehaltigen Versuchen und Nichtbestimmbarkeit der Enzymmenge in allen Versuchen, ist es nicht möglich festzustellen, ob bei Zellulosezugabe in die Nährlösung mehr Zellulase ausgeschieden wird als in Versuchen, die bei Zugabe von Glukose allein bereits starke Aktivität zeigen.

Unter der Annahme, daß die Zellulose als einziges Substrat für eine adaptive Zellulasebildung in Frage kommt, lassen die Versuche 1, 2, 4 und 5 dennoch erkennen, daß die Zellulasen von *Aspergillus niger* v. Tiegh. und *Trichoderma viride* Pers. eher zu den konstitutiven Enzymen zu zählen sind, werden sie doch schon bei Zugabe von Glukose in beträchtlichem Ausmaße gebildet. Die beiden Fermente gehören jedenfalls nicht zur Gruppe der ausgeprägt adaptiven Enzyme im Sinne Karströms.

Ziehen wir neben Zellulose auch deren Spaltprodukt, die Glukose, als ein für die adaptive Zellulasebildung in Frage kommendes Substrat in Betracht, so besteht, wie die Ergebnisse des Versuches 3 andeuten, die Möglichkeit, daß durch Zugabe von Glukose mehr Zellulase gebildet wird, als bei Zugabe von anderen Kohlehydratquellen. Solange aber nicht die genauen Zellulasemengen miteinander verglichen werden können und kein Vergleich einer Vielheit von Kohlenstoffquellen zur Verfügung steht, kann auch in diesem Fall nicht entschieden werden, ob die Zugabe des spezifischen Spaltproduktes eine steigernde Wirkung auf die Bildung der Zellulase hat oder nicht.

d) Versuche mit verschiedenen Pilzen

Da sich in den vorhergehenden Versuchen herausstellte, daß die Zellulase schon bei Zugabe von Glukose allein gebildet wird, und es sich überdies erwies, daß eine mögliche quantitative Steigerung der Zellulasebildung durch Zugabe von Zellulose nicht bestimmt werden kann, wurde in diesem und in allen folgenden Abschnitten nur noch geprüft, ob die untersuchten Organismen Zellulase zu bilden vermögen, wenn ihnen in der Nährlösung als Kohlenstoffquelle Glukose, oder zum mindesten keine Zellulose, zur Verfügung steht.

Versuch 6

Versuchsfrage: Wie groß sind nach zehntägiger Kultur die Myzeltrockengewichte und die Zellulaseaktivitäten einiger Pilze, wenn ihnen in der Nährlösung nur Glukose zur Verfügung steht?

Versuchsanordnung: Für jeden zu untersuchenden Pilz wurden 5 ERLENMEYER-Kolben mit je 200 ccm autoklavierter modifizierter MEYER'scher Nährlösung mit 1 % Glukose verwendet. Die Beimpfung der Kolben mit *Coniophora cerebella* (Pers.) Schroet. und *Polyporus vaporarius* Pers. erfolgte mit Hilfe von gleich groß gehaltenen Myzelstückchen, die von Malzagarplatten gewonnen wurden. Die anderen Kolben wurden mittels einer Sporensuspension beimpft. Alle Kolben wurden 10 Tage im Dunkeln bei 24 ° C gehalten. Nach dieser Zeit wurden die Zellulaseaktivitäten und die Myzeltrockengewichte in bekannter Art und Weise bestimmt.

Ergebnisse: Vergleiche Tabelle 11.

Tabelle 11

Der Ernteertrag (Myzeltrockengewicht) und die Zellulaseproduktion einiger Pilze nach zehntägiger Kultur in einer Glukose-haltigen Nährlösung

Name der untersuchten Pilze	Ernteertrag Myzeltrockengewicht mg	Wasserstoffionenkonzentration der Kulturflüssigkeit pH	Zellulose-%-Abbau
Penicillium luteum Zuk.	467 ± 7	2,6	65,2 ± 2,4
Polyporus vaporarius Pers.	14 ± 2	4,6	60,8 ± 4,7
Coniophora cerebella (Pers.) Schroet.	21 ± 5	4,2	51,6 ± 7,8
Myrothecium verrucaria (Alb. and Schw.) Ditm. ex Fr.	101 ± 67	4,7	44,0 ± 11,1
Botrytis cinerea Pers.	581 ± 15	2,5	35,7 ± 1,4
Helminthosporium sativum P. K. et B.	70 ± 6	4,5	13,3 ± 3,4
Gibberella Fujikuroi (Saw.) Woll. (Maisstamm)	526 ± 17	3,0	8,1 ± 1,3
Fusarium oxysporum Schlecht.	256 ± 22	3,7	Spur
Mucor Ramannianus Moell.	12 ± 2	4,2	0,0

Diskussion der Ergebnisse: Außer *Mucor Ramannianus* Moell. bilden alle untersuchten Pilze, allerdings bei ganz unterschiedlichem Wachstum, mehr oder weniger Zellulase. Das mit *Mucor Ramannianus* Moell. erzielte Ergebnis bestätigt die in der Literatur gemachten Angaben, daß Pilze dieser Gattung Zellulase nicht zu bilden vermögen (THAYSEN und BUNKER, 1927, PAINE, 1927). Allerdings muß darauf aufmerksam gemacht werden, daß wegen des geringen Wachstums dieses Pilzes mit der verwendeten Methode allfällig gebildete Zellulase vielleicht gar nicht nachgewiesen werden konnte.

e) Versuche mit Weiß- und Rotfäuleerregern

Beim destruktiven Abbau von Holz durch Pilze entstehen je nach Art des Angriffs zwei verschiedene Fäulnisbilder, die sich äußerlich durch die Farbe unterscheiden (vgl. GÄUMANN, 1951, S. 592 u. f.). Wenn das Zellulosegerüst herausgelöst und das Lignin als unverdaulich zurückgelassen wird, so erzeugen die betreffenden Erreger eine Rotfäule. Wenn dagegen das Lignin abgebaut und die weiße Zellulose übrig gelassen wird, so entsteht eine Weißfäule. Bei dieser Einteilung handelt es sich nicht um eine scharfe Trennung in Erreger, die nur Lignin oder nur Zellulose abbauen (BOYCE, 1948). So finden sich z. B. Angaben, daß auch Weißfäulepilze Zellulose abbauen können (vgl. Tabelle 5).

Um einerseits dies zu beweisen und anderseits abzuklären, ob die Zellulase bei den Rot- und Weißfäuleerregern unter denselben Ernährungsbedingungen, nämlich bei Zugabe von Glukose allein, gebildet wird, wurde versucht, auf folgende Fragen eine Antwort zu erhalten:

1. Bilden Rotfäuleerreger Zellulase, wenn ihnen in der Nährlösung auch keine Zellulose zur Verfügung steht?

2. Bilden die vorwiegend Lignin abbauenden Weißfäuleerreger neben Ligninasen wirklich auch Zellulase?

3. Wenn ja, bilden sie die Zellulase unter denselben Ernährungsbedingungen wie die Rotfäuleerreger?

Zur Lösung dieser Fragen wurde in Versuch 7 die Zellulasebildung bei einigen Weiß- und Rotfäuleerregern untersucht.

Versuch 7

Versuchsfrage: Wie groß sind nach zehntägiger Kultur bei 24° C im Dunkeln die Myzeltrockengewichte und die Zellulaseaktivitäten der untersuchten Weiß- und Rotfäuleerreger, wenn diesen als Kohlenstoffquellen Glukose und ganz wenig Malzextrakt geboten werden?

Versuchsanordnung: Sie ist gleich wie in Versuch 6, außer daß der Nährlösung neben 1 % Glukose noch 2 ‰ Malzextrakt beigefügt wurde, da sich in Vorversuchen herausstellte, daß die untersuchten Holzpilze

auf modifizierter MEYER'scher Nährlösung mit Glukose als einziger Kohlenstoffquelle schlecht wachsen. Die Beimpfung der Kolben erfolgte mit Hilfe von immer möglichst gleich groß gehaltenen Myzelstückchen, die von Malzagarplatten gewonnen wurden.

Ergebnisse: Vergleiche Tabelle 12.

Tabelle 12

Der Ernteertrag (Myzeltrockengewicht) und die Zellulaseproduktion einiger holzzerstörender Pilze nach zehntägiger Kultur in einer Glukose- und Malzextrakt-haltigen Nährlösung

Art der Fäule	Name der Erreger	Ernteertrag Myzeltrockengewicht mg	Wasserstoffionenkonzentration der Kulturflüssigkeit pH	Zellulose-%-Abbau
Rotfäule	*Trametes radiciperda* Hart.	49 ± 15	5,0	70,9 ± 2,7
Rotfäule	*Polyporus sulphureus* (Bull.) Fr.	41 ± 5	4,3	53,4 ± 5,5
Rotfäule	*Trametes serialis* Fr.	32 ± 3	4,7	52,7 ± 1,7
Weißfäule	*Stereum purpureum* Pers.	81 ± 6	4,1	50,1 ± 1,3
Weißfäule	*Schizophyllum commune* Fr.	97 ± 9	5,1	38,6 ± 12,2
Weißfäule	*Polystictus versicolor* L.	105 ± 39	3,6	33,6 ± 10,7
Weißfäule	*Polyporus adustus* (Willd.) Fr.	26 ± 3	4,8	30, 3 ± 3,5

Diskussion der Ergebnisse: Wie alle bisher untersuchten Pilze bilden die Rotfäuleerreger Zellulase, auch wenn ihnen in der Nährlösung keine Zellulose zur Verfügung steht.

Ebenso sind die untersuchten Weißfäuleerreger imstande, und zwar unter denselben Ernährungsbedingungen wie die Rotfäulepilze, Zellulase zu bilden. Dieses Ergebnis ist somit eine weitere Bestätigung für die in der Literatur vertretene Ansicht, daß aus der Einteilung eines Pilzes in eine der beiden Fäulnisgruppen nicht geschlossen werden darf, daß er nur bestimmte Enzyme besitzt, welche ihm erlauben, entweder nur Lignin oder nur Zellulose abzubauen.

B) Versuche mit Bakterien

Eine Zusammenstellung, sowie weitere Literaturangaben über Zellulose abbauende Bakterien finden sich z. B. bei THAYSEN und BUNKER (1927). Bei den in jener Arbeit erwähnten Spaltpilzen handelt es sich um saprophytische Formen, die bei der Zellulosezersetzung des Bodens usw. eine Rolle spielen. Über zelluloselösende Eigenschaften pflanzen- und menschen- bzw. tier-

pathogener Mikroorganismen finden sich unseres Wissens auch in der neueren Literatur keine Angaben.

Im Folgenden wurde versucht, zwei Fragen zu beantworten, die im Zusammenhang mit den von GÄUMANN (1951, S. 324 u. f.) gemachten Ausführungen über die Möglichkeiten einer gemeinsamen Besiedlung von Mensch und Pflanze durch den gleichen Mikroorganismus stehen.

Einerseits wurde in Abschnitt a) untersucht, ob *Bacterium carotovorum* (Jon.) L. et N., als Vertreter der sogenannten Korrosionserreger, die nur die Mittellamellen bewohnen, also auf die Protopektine der Pflanzen angewiesen sind, nicht auch Zellulase zu bilden vermag.

Anderseits wurde in Abschnitt b) untersucht, ob bei menschen- bzw. tierpathogenen Bakterien das Unvermögen, Pflanzen zu infizieren, unter anderem darauf zurückzuführen ist, daß diese Organismen keine Zellulase zu bilden vermögen.

In beiden Abschnitten wurde die in Frage kommende Zellulasebildung nur bei Zugabe von Glukose in die Nährlösung untersucht.

Besondere Aufmerksamkeit wurde überdies dem Filtrationsproblem geschenkt. Da nicht bekannt war, ob das Filtrieren durch Bakterienfilter einen Einfluß auf die Aktivität der Zellulase hat, und weiter von Interesse war, ob gegebenenfalls Unterschiede bei Verwendung von verschiedenen Filtern auftreten, wurden in Abschnitt a) neben nicht filtriertem Kulturfiltrat auch Kulturfiltrate geprüft, die entweder durch SEITZfilter oder durch G 5 Bakterienfilter filtriert wurden.

a) Versuch mit *Bacterium carotovorum* (Jon.) L. et N.

Versuch 8

Versuchsfrage: Wie groß sind die Zellulaseaktivitäten von *Bacterium carotovorum* (Jon.) L. et N. nach eintägiger Kultur und nach Anwendung verschiedener Filtrationsmethoden, wenn dem Bakterium in der Nährlösung keine Zellulose zur Verfügung steht?

Versuchsanordnung: 5 ERLENMEYER-Kolben (500 ccm, Muranoglas) wurden mit je 200 ccm DIFCO-Bouillon mit 1 % Glukose beschickt, autoklaviert und mit je 1 ccm einer 1 Tage alten Bakterienkultur von *Bacterium carotovorum* (Jon.) L. et N. beimpft. Die beimpften Kolben wurden während 24 Stunden im Dunkeln beim Wachstumsoptimum von 27 ° C (ELLIOTT, 1930) gehalten. Die 5 Kulturfiltrate wurden nicht einzeln getestet, sondern die Inhalte aller 5 Kolben wurden gemischt. Die Zahlen in Tabelle 13 entsprechen dem Mittel von 3 parallel ausgeführten Aktivitätsbestimmungen dieses Mischkulturfiltrates. Ein Teil des Mischkulturfiltrates wurde unbehandelt, also mit den Bakterienzellen, getestet. Die eine Hälfte des übriggebliebenen Kulturfiltrates wurde vor dem Testen durch ein SEITZfilter, die andere durch einen G 5 Glasfiltertiegel filtriert.

Ergebnisse: Vergleiche Tabelle 13.

Tabelle 13

Der Einfluß verschiedener Filtrationsmethoden auf die Zellulaseaktivität eines eintägigen Kulturfiltrates von *Bacterium carotovorum* (Jon.) L. et N., wenn in der Nährlösung als Kohlenstoffquelle **keine Zellulose** geboten wird

Filtrationsmethode	Wasserstoffionenkonzentration der Kulturflüssigkeit pH	Zellulose-%-Abbau
Nicht filtriert	5,3	43,5 ± 0,1
G 5 Glasfiltertiegel	5,2	42,1 ± 0,3
Seitzfilter	5,8	23,5 ± 0,7

Diskussion der Ergebnisse: *Bacterium carotovorum* (Jon.) L. et N. bildet unter den in Versuch 8 gebotenen Ernährungsbedingungen Zellulase, d. h. auch ohne Zugabe von Zellulose. Ob das Bakterium pflanzliche Zellulose angreifen vermag oder dies sogar muß, um überhaupt eine Pflanze infizieren zu können, kann aus diesem Ergebnis nicht geschlossen werden, da nicht bekannt ist, ob das Bakterium über die anderen Fermente verfügt, welche wahrscheinlich zur Spaltung nativer Zellulose nötig sind (z. B. Ferment Z_t nach REESE, SIU und LEVINSON, 1950).

Wenn wie die Zellulaseaktivität des **nicht filtrierten** Kulturfiltrates mit der Aktivität des **seitzfiltrierten** Kulturfiltrates verglichen, so zeigt sich, daß bei Anwendung dieser Filtrationsmethode **ein Teil der Zellulase**, oder vielleicht ein Teil möglicherweise vorhandener Aktivatoren, **verlorengeht**. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist dieser Verlust auf die adsorbierenden Eigenschaften der filtrierenden Schichten des Seitzfilters zurückzuführen. Beim Filtrieren durch G 5 **Glasfiltertiegel geht** hingegen, wie der Vergleich mit nicht filtriertem Kulturfiltrat zeigt, **praktisch keine Aktivität verloren** (vgl. auch die pH-Werte der verschieden behandelten Kulturfiltrate).

b) Versuche mit *Escherichia coli* (Mig.) Cast. und *Staphylococcus aureus* Rosenb.

Versuch 9

Versuchsfrage: Wie groß sind die Zellulaseaktivitäten von *Escherichia coli* (Mig.) Cast. und *Staphylococcus aureus* Rosenb. nach eintägiger Kultur, wenn diesen Bakterien in der Nährlösung **keine Zellulose** zur Verfügung steht?

Versuchsanordnung: Sie ist gleich wie in Versuch 8, mit der Ausnahme, daß die Kulturen bei 37° C gehalten wurden und die Mischkulturen nur nach Filtration durch G 5 Glasfiltertiegel getestet wurden.

Ergebnisse: Vergleiche Tabelle 14.

Tabelle 14

Die Zellulaseaktivitäten eintägiger Kulturfiltrate von *Escherichia coli* (Mig.) Cast. und *Staphylococcus aureus* Rosenb., wenn in der Nährlösung als Kohlenstoffquelle keine Zellulose geboten wird

Name des untersuchten Bakteriums	Wasserstoffionenkonzentration der Kulturflüssigkeit pH	Zellulose-%-Abbau
Escherichia coli (Mig.) Cast.	4,6	0,0
Staphylococcus aureus Rosenb.	4,5	0,0

Diskussion der Ergebnisse: Die beiden untersuchten Bakterien bilden unter den in Versuch 9 gebotenen Ernährungsbedingungen keine Zellulase. Obwohl auf Grund eines einzigen Resultates kein endgültiger Schluß gezogen werden kann, ist dieses Ergebnis eine erste Bestätigung dafür, daß das Unvermögen menschen- bzw. tierpathogener Bakterien Pflanzen zu infizieren unter anderem darauf zurückzuführen ist, daß diesen Organismen die Fähigkeit, Zellulose lösende Fermente zu bilden, fehlt.

5. Kapitel

Einfluß der Temperatur auf die Zellulasebildung

Im Gegensatz zu den menschenpathogenen Mikroorganismen, die nach dem Haften der Infektion den Einflüssen der Umweltstemperatur entzogen sind, werden die pflanzenpathogenen Mikroorganismen auch im Innern des Wirtes weitgehend von der Umweltstemperatur beeinflußt. Dabei werden mindestens drei im Enzymsektor eines Erregers eine Rolle spielende Variable durch den Temperaturfaktor gesteuert:

1. Die Wachstumsgeschwindigkeit des Erregers, welche bei Pilzen dem Körpergewicht, der produzierten Myzelmenge entspricht.

2. Die Enzymmenge, die ein Erreger absolut oder je Einheit Myzelgewicht bildet.

3. Die Enzymwirkung, deren Optimum meist bei Temperaturen liegt, bei welchen die betreffenden Erreger überhaupt nicht mehr zu gedeihen vermögen.

Auf die Schwierigkeiten, die sich bei der Abklärung der Frage des Einflusses der Umweltstemperatur auf die enzymatische Leistungsfähigkeit eines Pilzes stellen, wurde schon in der Arbeit von Gäumann und Nef (1947) über pektinspaltende Enzyme hingewiesen.

Von den in jener Arbeit untersuchten beiden Problemen:

1. Deckt sich der Temperaturbereich, innerhalb dessen ein Pilz unter gegebenen Ernährungsbedingungen ein Enzym bildet, mit dem Temperaturbereich für das Myzelwachstum?

und

2. Verläuft die Produktion des Enzymes innerhalb des Bereiches, in welchem es gebildet wird, proportional zum Myzelwachstum, oder wird z. B. bei tiefen Temperaturen je Myzelgewichtseinheit mehr Enzym gebildet?

wurde wegen methodischer Schwierigkeiten (Unbestimmbarkeit der Enzymmenge, vgl. 4. Kapitel, Abschnitt c) in dieser Arbeit für die Zellulase nur die Frage 1 in den Versuchen 10 und 11 abgeklärt.

Ein anderes in jener Arbeit gestelltes Problem:

Ist die Temperaturspanne für das Myzelwachstum mit derjenigen für die Enzymwirkung identisch?

läßt sich für die Zellulase aus der neueren Literatur beantworten. Die Zellulase wirkt nach Angaben von SAUNDERS, SIU und GENEST (1948) und LEVINSON und REESE (1950) noch bei Temperaturen, die auch von extrem curythermen Erregern, wie z. B. *Aspergillus niger* v. Tiegh. (Myzelwachstum von -2^0 bis $+49^0$ C), für ihr vegetatives Wachstum nicht mehr ausgenützt werden können. Die Temperaturspanne für das vegetative Wachstum ist wohl bei allen Pilzen enger, als die Temperaturspanne, innerhalb welcher die Zellulase zu wirken vermag.

a) Versuch mit *Aspergillus niger* v. Tiegh.

Versuch 10

Versuchsfrage: Wie groß sind die Myzeltrockengewichte und die Zellulaseaktivitäten von *Aspergillus niger* v. Tiegh. nach zwölftägiger Kultur bei verschiedenen Temperaturen?

Versuchsanordnung: Die Bestimmung der Myzeltrockengewichte und der Zellulaseaktivitäten erfolgte im Temperaturbereich von 4^0 bis 37^0 C in Temperaturintervallen von je 3 Grad. Für jede Temperaturstufe wurden 5 Kolben angesetzt. Alle Kolben wurden mit 200 ccm modifizierter MEYER'scher Nährlösung mit 1 % Glukose beschickt, autoklaviert und mit je 1 ccm einer Sporensuspension beimpft, die ungefähr 210 000 Sporen je ccm enthielt. Nachher wurden alle Kolben 12 Tage bei den betreffenden Temperaturen gehalten. An jedem Tag wurde die Temperatur zweimal abgelesen. Die in Tabelle 15 angegebenen Temperaturen stellen die Mittelwerte dieser Ablesungen dar. Nach Ablauf der 12 Tage wurden die Myzelgewichte bestimmt und die Kulturfiltrate auf ihren Gehalt an Zellulase geprüft.

Ergebnisse: Vergleiche Tabelle 15 und Abb. 5.

Tabelle 15

Die Temperaturabhängigkeit der Myzel- und Zellulasebildung bei *Aspergillus niger* v. Tiegh.

°C	Ernteertrag Myzeltrockengewicht mg	Wasserstoffionenkonzentration der Kulturflüssigkeit pH	Zellulose-%-Abbau
4,1 ± 1,4	8 ± 2	5,3	Spur
6,1 ± 0,3	9 ± 1	5,3	Spur
9,2 ± 0,6	9 ± 2	5,3	Spur
11,9 ± 0,3	24 ± 9	4,6	10,2 ± 7,0
15,4 ± 0,2	654 ± 26	2,6	69,9 ± 2,6
17,4 ± 0,4	771 ± 55	2,6	72,7 ± 2,1
21,3 ± 0,2	779 ± 46	2,6	73,5 ± 1,6
24,8 ± 0,2	773 ± 54	2,6	72,9 ± 2,1
27,0 ± 0,4	752 ± 20	2,6	71,3 ± 3,2
30,3 ± 0,2	734 ± 34	2,6	71,5 ± 2,4
32,9 ± 0,1	717 ± 35	2,6	71,1 ± 1,9
36,7 ± 0,4	628 ± 12	2,8	73,8 ± 2,0

Diskussion der Ergebnisse: Bis 12° Celsius wächst der Pilz nur sehr schwach. Von 12° bis 15° C steigt dann das Myzelgewicht steil an, und zwischen 17° und 33° C sind die Trockengewichtswerte am höchsten. Bei 37° C ist bereits wieder ein leichtes Abfallen des Myzelgewichtes festzustellen.

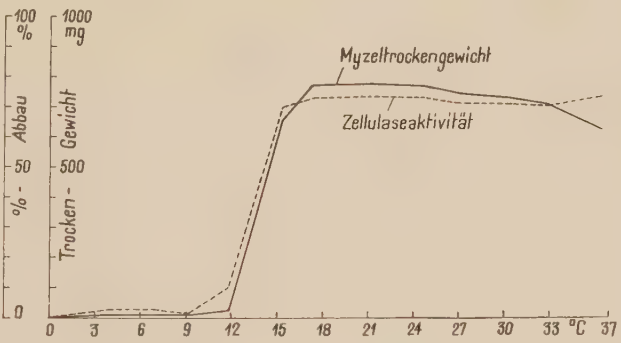


Abb. 5. Der Einfluß der Wachstumstemperatur auf das Myzelwachstum und die Zellulasebildung von *Aspergillus niger* v. Tiegh.

Die Zellulase ist in Spuren schon bei 4° C nachzuweisen. Ungefähr bei der gleichen Temperatur wie das Myzelgewicht fängt die Zellulaseaktivität an zu steigen. Bei 15° C weisen die betreffenden Kulturfiltrate bereits eine Aktivität von rund 70% auf. In dieser Größenordnung bewegen sich die Zahlenwerte bis zur höchsten untersuchten Wachstumstemperatur von 37° C. Die Zellulase wird also über den ganzen untersuchten Temperaturbereich von 4° bis 37° C gebildet. Es ist somit erwiesen, daß sich der Temperaturbereich, innerhalb dessen *Aspergillus niger* v. Tiegh. unter den in Versuch 10 gebotenen Ernährungsbedingungen Zellulase bildet, mit dem Temperaturbereich für das Myzelwachstum deckt.

b) Versuch mit *Penicillium luteum* Zuk.

Versuch 11

Versuchsfrage: Wie groß sind die Myzeltrockengewichte und die Zellulaseaktivitäten von *Penicillium luteum* Zuk. nach zwölftägiger Kultur bei verschiedenen Temperaturen?

Versuchsanordnung: Sie ist gleich wie in Versuch 10, mit der Ausnahme, daß je Temperaturstufe nur die Zellulaseaktivität des Mischkulturfiltrates der 5 Kolben geprüft wurde. Die Zahlen in Tabelle 16 entsprechen dem Mittel von je 3 parallel ausgeführten Bestimmungen dieser Mischkulturfiltrate. Die Werte für die Myzelgewichte entsprechen dagegen wie in allen bisherigen Versuchen dem Mittel von je 5 getrennt ausgeführten Bestimmungen.

Ergebnisse: Vergleiche Tabelle 16 und Abb. 6.

Tabelle 16

Die Temperaturabhängigkeit der Myzel- und Zellulasebildung bei *Penicillium luteum* Zuk.

°C	Ernteertrag Myzel-trockengewicht mg	Wasserstoffionen-konzentration der Kulturflüssigkeit pH	Zellulose-%-Abbau
3,6 ± 1,3	0	4,8	0
6,4 ± 0,6	0	4,8	0
9,5 ± 0,5	Spur	4,6	0
12,0 ± 0,5	26 ± 4	4,4	Spur
14,2 ± 0,5	45 ± 1	4,0	5,0
17,2 ± 0,4	316 ± 74	2,7	28,3
21,0 ± 0,1	485 ± 13	2,7	63,3
24,6 ± 0,1	501 ± 4	2,7	64,9
27,2 ± 0,3	415 ± 5	2,7	57,8
29,9 ± 0,2	410 ± 24	2,7	28,4
33,1 ± 0,1	436 ± 36	2,7	15,8
36,5 ± 0,3	439 ± 16	2,8	15,7

Diskussion der Ergebnisse: Bei 3,6° und 6,4° C ist nach 12 Tagen noch kein Wachstum festzustellen. Zwischen 6,4° und 14° Celsius wächst der Pilz nur sehr langsam. Das Myzelgewicht steigt dann aber zwischen 14° und 17° C stark an, und bei 24° C liegt das Optimum für das vegetative Wachstum des Pilzes. Nachher fällt das My-

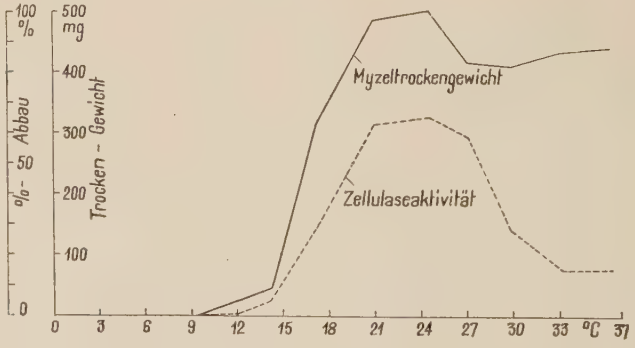


Abb. 6. Der Einfluß der Wachstumstemperatur auf das Myzelwachstum und die Zellulasebildung von *Penicillium luteum* Zuk.

zelgewicht wieder ab, zeigt aber zwischen 27° und 36,5° C ziemlich konstante Werte.

Die Zellulase konnte erst bei 12° C nachgewiesen werden, da bei den tieferen Temperaturen kein oder nur wenig Myzel gewachsen ist. Von 14° C steigt die Aktivität an, um bei 24° C ihren höchsten Wert zu erreichen. Nachher geht die Aktivität zurück, und bei 36,5° C ist noch ein Abbau von 16% festzustellen. Die Zellulase wird also über den ganzen untersuchten Temperaturbereich, innerhalb welchem der Pilz zu wachsen vermag, gebildet. Die Temperaturspanne für das Myzelwachstum deckt sich somit, wie bei *Aspergillus niger* v. Tiegh., mit derjenigen für die Enzymbildung.

Zusammenfassung

1. Es wurde eine Methode beschrieben, mit deren Hilfe die Zellulase, welche die 1,4 β-glykosidischen Bindungen der Zellulose spaltet (Ferment Z_X im Sinne von Reese, Siu und Levinson, 1950), viskosimetrisch in Kulturfiltraten von Pilzen und Bakterien nachgewiesen werden kann.

2. Als Substrat für die Messungen der Enzymaktivitäten diente Methylzellulose, ein wasserlöslicher Zelluloseäther.

3. Auf Grund von Ernährungsversuchen mit *Aspergillus niger* v. Tiegh. und *Trichoderma viride* Pers. wurde zunächst festgestellt, daß die von diesen Pilzen gebildete Zellulase eher zu den konstitutiven Enzymen zu rechnen ist, jedenfalls nicht zur Gruppe der ausgeprägt adaptiven Enzyme im Sinne Karströms (1938), da sie auch ohne Zellulose, schon bei Zugabe von Glukose allein in die Nährlösung in ziemlichem Ausmaße gebildet wird. Wegen methodischer Schwierigkeiten (Nichtbestimmbarkeit der Enzymmenge in den Kulturfiltraten aller Versuche und Nichtbestimmbarkeit des Myzeltrockengewichtes in den Versuchen mit zellulosehaltigen Kulturfiltraten) konnte nicht abgeklärt werden, ob die Zugabe des spezifischen Nährstoffes vielleicht doch eine quantitative Steigerung der Bildung von Zellulase zur Folge hat.

4. Alle im weiteren Verlauf dieser Arbeit untersuchten Pilze und Bakterien produzieren Zellulase (wie *Aspergillus niger* v. Tiegh. und *Trichoderma viride* Pers.), wenn ihnen in der Nährlösung nur Glukose oder zum mindesten keine Zellulose als Kohlenstoffquelle zur Verfügung steht. Eine Ausnahme davon bilden *Mucor Ramannianus* Moell., *Escherichia coli* (Mig.) Cast. und *Staphylococcus aureus* Rosenb., von denen anzunehmen ist, daß sie überhaupt keine Zellulose abzubauen vermögen.

5. Insbesondere bilden auch Spezialisten, wie die vor allem das Lignin angreifenden Weißfäuleerreger, und *Bacterium caroto-*

vorum (Jon.) L. et N., als Vertreter der sogenannten protopektinangreifenden Korrosionserreger, unter den ihnen in dieser Arbeit gebotenen Ernährungsbedingungen Zellulase.

6. In Temperaturversuchen mit *Aspergillus niger* v. Tiegh. und *Penicillium luteum* Zuk. konnte gezeigt werden, daß sich die Temperaturspanne für das Myzelwachstum mit derjenigen für die Zellulasebildung deckt.

*

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für spezielle Botanik an der Eidgenössischen Technischen Hochschule unter Leitung von Herrn Prof. Dr. E. GÄUMANN ausgeführt. Es sei ihm an dieser Stelle der beste Dank für die großzügige Überlassung von Materialien und Gerätschaften, sowie für seine wertvollen Ratschläge ausgesprochen. Ebenso gebührt all jenen, die mich während dieser Arbeit mit Rat und Tat unterstützten, mein Dank.

Literaturverzeichnis

BLUMER, S., 1944. Beiträge zur Physiologie von *Trichoderma viride* Pers. ex Fries. Ber. schweiz. bot. Ges. **54**, 605—624.

BOYCE, J. S., 1948. Forest pathology. McGraw-Hill, New York, 550 S.

CAMPBELL, W. G., 1930. The chemistry of the white rots of wood. I. The effect on wood substance of *Polystictus versicolor* (Linn.) Fr. Biochem. J. **24**, 1235—1243.

— —, 1932. The chemistry of the white rots of wood. III. The effect on wood substance of *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat., *Fomes fomentarius* (Linn.) Fr., *Polyporus adustus* (Willd.) Fr., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Fr., *Armillaria mellea* (Vahl.) Fr., *Trametes pini* (Brot.) Fr. and *Polystictus abietinus* (Dicks.) Fr. Biochem. J. **26**, 1829 bis 1838.

ELLIOTT, C., 1930. Manual of bacterial plant pathogens. Baillière, Tindall and Cox, London, 349 S.

ENEBO, L. and LUNDIN, H., 1944. On the fermentation of cellulose and similar carbo-hydrates by thermophilic bacteria. Festschrift „The Svedberg", Uppsala 1944, 438—455.

FÅHRAEUS, G., 1947. Studies in the cellulose decomposition by *Cytophaga*. Symb. Bot. Upsalienses **9**, 2, 128 S.

FALCK, R., 1926. Über korrosive und destruktive Holzzersetzung und ihre biologische Bedeutung. Ber. dtsch. bot. Ges. **44**, 652—664.

GARREN, K. H., 1938. Studies on *Polyporus abietinus*. I. The enzyme-producing ability of the fungus. Phytopath. **28**, 839—845.

GÄUMANN, E., 1951. Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 681 S.

— — und BÖHNI, E., 1947 a. Über adaptive Enzyme bei parasitischen Pilzen I. Helv. Chim. Acta **30**, 24—38.

— — und BÖHNI, E., 1947 b. Über adaptive Enzyme bei parasitischen Pilzen II. Helv. Chim. Acta **30**, 1591—1595.

— — und NEF, U., 1947. Der Einfluß der Temperatur auf die enzymatische Leistungsfähigkeit zweier pflanzenpathogener Pilze. Ber. schweiz. bot. Ges. **57**, 258—271.

Grassmann, W., Zechmeister, L., Tóth, G. und Stadler, R., 1933. Über den enzymatischen Abbau der Cellulose und ihrer Spaltprodukte. Liebigs Ann. Chemie **503**, 167 bis 179.

Greathouse, G. A., Klemme, D. E. and Barker, H. D., 1942. Determining the deterioration of cellulose caused by fungi. Indust. & Eng. Chem., Anal. Ed. **14**, 614—620.

Haskins, J. F., 1946. Cellulose ethers of industrial significance. Advanc. Carbohydrate Chem. **2**, 279—294.

Haworth, W. N., 1939. The structure of cellulose and other polymers related to simple sugars. Chemistry and Industry **17**, 917—925.

Hess, K. und Steurer, E., 1940. Vergleich von Endgruppenbestimmung und Viskosität bei Cellulose. Ber. dtsch. chem. Ges. **73 B**, 669—676.

Karrer, P., Schubert, P. und Wehrli, W., 1925. Polysaccharide XXXIII. Über enzymatischen Abbau von Kunstseide und nativer Cellulose. Helv. Chim. Acta **8**, 797—810.

Karström, H., 1938. Enzymatische Adaptation bei Mikroorganismen. Ergebn. Enzymforsch. **7**, 350—376.

Kylin, H., 1914. Über Enzymbildung und Enzymregulation bei einigen Schimmelpilzen. Jb. wiss. Bot. **53**, 465—501.

Levinson, H. S. and Reese, E. T., 1950. Enzymatic hydrolysis of soluble cellulose derivatives as measured by changes in viscosity. J. Gen. Physiol. **33**, 601—628.

Linder, A., 1945. Statistische Methoden. Birkhäuser, Basel, 150 S.

Lutz, L., 1934. Sur les ferments solubles sécrétés par les champignons Hyménomycètes. Cytolyse de la cellulose. C. r. Acad. Sci. Paris **199**, 893—894.

Nord, F. F. and Vitucci, J. C., 1948. Certain aspects of the microbiological degradation of cellulose. Advanc. Enzymology **8**, 253—298.

Norkrans, B., 1950. Studies in growth and cellulolytic enzymes of *Tricholoma*. With special reference to mycorrhiza formation. Symb. Bot. Upsalienses **11**, 1, 126 S.

Norman, A. G., 1931. The biological decomposition of plant materials. Part IV. The biochemical activities on straws of some cellulose-decomposing fungi. Ann. appl. Biol. **18**, 244—259.

— — and Fuller, W. H., 1942. Cellulose decomposition by microorganisms. Advanc. Enzymology **2**, 239—264.

Pacsu, E., 1947. Molecular structure of cellulose and starch. J. Polymer Sci. **2**, 565—582.

Paine, F. S., 1927. Studies of the fungous flora of virgin soils. Mycologia **19**, 248—267.

Phaff, H. J., 1947. The production of exocellular pectic enzymes by *Penicillium chrysogenum*. I. On the formation and adaptive nature of polygalacturonase and pectinesterase. Arch. Biochem. **13**, 67—81.

Pringsheim, H., 1912. Über den fermentativen Abbau der Cellulose. Z. physiol. Chem. **78**, 266—291.

— — und Kohn, G., 1924. Zur Kenntnis des Inulins und der Inulase. IV. Mitteilung. Z. physiol. Chem. **133**, 80—96.

Reese, E. T., Siu, R. G. H. and Levinson, H. S., 1950. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. J. Bact. **59**, 485—497.

Saunders, P. R., Siu, R. G. H. and Genest, R. N., 1948. A cellulolytic enzyme preparation from *Myrothecium verrucaria*. J. Biol. Chem. **174**, 697—703.

Schenker, R., 1921. Zur Kenntnis der Lipase von *Aspergillus niger* (van Tiegh.). Biochem. Z. **120**, 164—196.

Spiegelman, S. and Reiner, J. M., 1947. The formation and stabilization of an adaptive enzyme in the absence of its substrate. J. Gen. Physiol. **31**, 175—193.

— —, Reiner, J. M. and Cohneerg, R., 1947. The relation of enzymatic adaptation to the metabolism of endogenous and exogenous substrates. J. Gen. Physiol. **31**, 27—49.

— —, Reiner, J. M. and Morgan, I., 1947. The apoenzymatic nature of adaptation to galactose fermentation. Arch. Biochem. **13**, 113—125.

Thaysen, A. C. and Bunker, H. J., 1927. The microbiology of cellulose, hemicelluloses, pectin and gums. Oxford University Press, London, 363 S.

Went, F. A. F. C., 1901. Über den Einfluß der Nahrung auf die Enzymbildung durch *Monilia Sitophila* (Mont.) Sacc. Jb. wiss. Bot. **36**, 611—664.

White, W. L., Darby, R. T., Stechert, G. M. and Sanderson, K., 1948. Assay of cellulolytic activity of molds isolated from fabrics and related items exposed in the tropics. Mycologia **40**, 34—84.

— —, Siu, R. G. H. and Reese, E. T., 1948. The black Aspergilli in relation to cellulosic substrata. Bull. Torrey Bot. Club **75**, 604—631.

Winogradsky, S., 1929. Etudes sur la microbiologie du sol. IV. Sur la dégradation de la cellulose dans le sol. Ann. Inst. Pasteur **43**, 549—633.

Yudkin, J., 1938. Enzyme variation in micro-organisms. Biolog. Rev. Cambridge Phil. Soc. **13**, 93—106.

Ziese, W., 1931. Über die Einwirkung von Fermenten des Magensaftes von *Helix pomatia* und solcher des Gerstenmalzes auf Celluloseglykoläther. Z. physiol. Chem. **203**, 87—116.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für angewandte Chemie, Hann.-Münden

Polarographische und papierelektrophoretische Charakterisierung von Kartoffelproteinen in ihrer Beziehung zu Kartoffelvirosen

Von

W. Kanngiesser

Mit 9 Abbildungen

Bei der Reindarstellung von Viruseiweiß aus Kartoffeln, Tabak oder anderen Pflanzen wird die leichte Denaturierbarkeit der im Nativsaft enthaltenen Proteine durch Kälte, Wärme, Kohlensäure, Chloroform oder längeres Aufbewahren des Saftes zur Trennung dieser Stoffe von dem weniger leicht denaturierbaren Viruseiweiß ausgenutzt (1 u. 2). Über den Denaturierungsvorgang bestehen nur Vermutungen und die Eigenschaften der abzutrennenden Körper sind nur unzulänglich bekannt. Deshalb sind bisher keine sicheren Angaben darüber möglich, ob und in welchen Mengen Viruseiweiß bei der Ausflockung mitgerissen wird und welche Methode die besten Ergebnisse erwarten läßt. Es sind deshalb qualitative und quantitative Feststellungen über die im Nativsaft enthaltenen Proteine und andere hochmolekulare Inhaltsstoffe (Nucleoproteide, Nucleinsäuren, Polysaccharide usw.) erforderlich. Diese erscheinen auch für die weitere Bearbeitung der Aetiologie und Diagnose von Viruskrankheiten interessant und aussichtsreich, da bisher vorwiegend die Stoffwechselanomalien der niedermolekularen Inhaltsstoffe untersucht worden sind.

Daher wurde die Darstellung und Charakterisierung der in Kartoffelknollen oder -kraut enthaltenen Proteine bzw. anderer hochmolekularer Stoffe versucht.

Die Ammonsulfat-Fraktionierung ergibt bei Preßsäften aus Kartoffelknollen infolge der sofort einsetzenden und auch während der Darstellung schnell weiterlaufenden Denaturierungsvorgänge eine äußerst geringe Menge Eiweiß und führt meistens zu Produkten, die in den gebräuchlichsten Eiweißlösungsmitteln unlöslich sind. Auffallend ist die Veränderung der Lösungseigenschaften dieser Präparate durch längeres Lagern bei gewöhnlicher Temperatur und Feuchtigkeit. Ein Präparat z. B., das Anfang Dezember 1950 durch Ammonsulfat-Fraktionierung aus Knollenpreßsaft gewonnen

worden war, war nach der Darstellung völlig unlöslich, konnte jedoch im März 1951 ohne besonderen Zusatz lösungsfördernder Stoffe glatt in Wasser oder Pufferlösung gelöst und polarographisch (2) aufgenommen werden. Im Vergleich mit Serumproteinen wie auch in seinem allgemeinen Lösungsverhalten zeigte es im ganzen Pseudoglobulineigenschaften (Abb. 1 u. 2). Die sehr geringe Ausbeute dieser Produkte (aus 4 Pfd. Kartoffeln 200—400 mg) macht die Untersuchung der Fraktionen des Nativsaftes erforderlich. Es wurde daher die Papierelektrophorese nach TURBA und TH. WIELAND (4) zur Sichtbarmachung der im frischen oder vorbehandelten Preßsaft vorhandenen Proteine angewendet. Dabei zeigte es sich, daß bei Elektrophorese in den gebräuchlichen Pufferlösungen im allgemeinen 3 Eiweißfraktionen zu sehen sind. Eine Ausnahme macht NaCl-Puffer, in dem nur 2 Fraktionen auftreten. Die Hauptfraktion wandert bis herab zu pH 5 anodisch, ihr isoelektrischer Punkt (IP) liegt also wohl ungefähr in der Nähe des IP anderer Globuline und Albumine, die zweite kleinste Fraktion, die im NaCl-Puffer nicht zu sehen ist, wandert etwas langsamer, während die dritte Fraktion basisch zu sein scheint, denn sie wandert — je nach Pufferzusammensetzung — noch bis herauf zu pH 9 zur Katode.

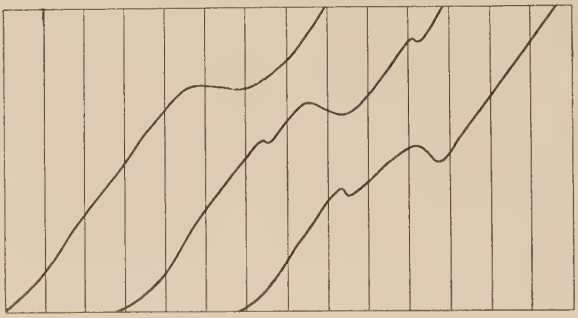


Abb. 1. γ-Globulin (Behringwerke) in 0,4-, 0,2- und 0,1-prozentiger Konzentration in n/50 H_2SO_4 und n/62,5 KJ anodisch aufgenommen

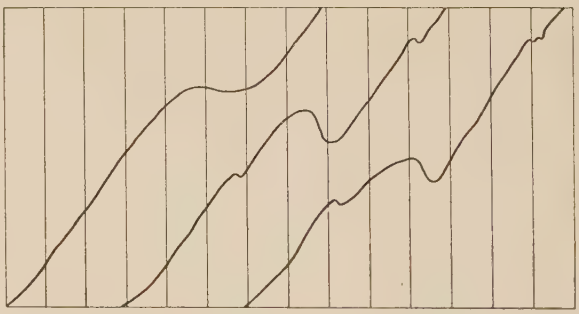


Abb. 2. Präparat 8 b in 0,4-, 0,2- und 0,1prozentiger Konzentration wie vorher aufgenommen

Über die präparative Darstellung der einzelnen Proteine mittels neuartiger kontinuierlicher Trennverfahren soll später berichtet werden.

Die Eiweißfraktionierung durch Papierelektrophorese schien auch eine Diagnosemöglichkeit für viruskranke Kartoffeln zu bieten. Wenn sich auch diese Hoffnung nicht ganz erfüllte, und bei den kleinen Viruskonzentrationen, wie sie vor allem in ruhenden Kartofelknollen vorzuliegen scheinen, auch kaum erwartet werden kann, so konnte doch eine deutliche Differenzierung von Preßsäften gesunder und rollkranker Knollen gefunden werden. Im vorzentrifugierten frischen Preßsaft gesunder Knollen ist die zweite

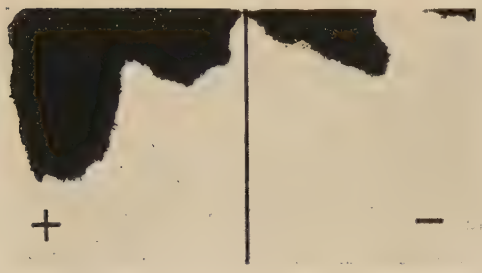


Abb. 3. Kartoffelknollenrohsaft gesunder Ackersegenknollen nach Th. Wieland auf Whatman 1-Papier elektrophoriert und entwickelt

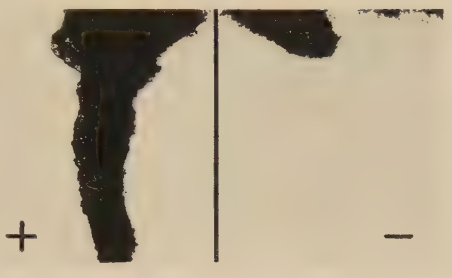


Abb. 4. Kartoffelknollenrohsaft rollkranker Ackersegenknollen nach Th. Wieland auf Whatman 1-Papier elektrophoriert und entwickelt

Fraktion gegenüber rollkranken Knollen z. T. wesentlich verstärkt (Abb. 3 [ges.]u. 4 [rollkrank]). Auch in einem längere Zeit unter Toluol im Kühlschrank aufbewahrten Saft, dessen leicht denaturierbare Anteile bereits im Laufe der Zeit ausgefallen waren, tritt diese Erscheinung abgeschwächt hervor (Abb. 5 [ges.] u. 6 [rollkrank]). Ein Analogon hierzu könnte in der Vermehrung der verschiedenen Serumglobuline auf Kosten der Albumine bei tierischen Krankheiten gesehen werden.

Eine weitere Möglichkeit der Diagnose bietet die Extraktion der bei der Saftherstellung anfallenden Preßrückstände und ihre physikalisch-chemische Untersuchung.

Es wurde gefunden, daß man die Preßkuchen noch mit einem stark alkalischen Puffer von pH 13 extrahieren kann, ohne daß die anwesende Stärke verkleistert und jede Filtration oder Zentrifugierung unmöglich macht. Die lufttrockenen Rückstände gesunder und rollkranker Knollen der Sorte Ackersegen wurden auf diese Weise extrahiert und nach Ansäuern zwecks Ausfällung der pektinartigen, in Säure und Proteinlösungsmitteln unlöslichen und daher nach unserer Methode nicht polarographierbaren Stoffe nach Dialyse gegen Leitungswasser oder dest. Wasser im Vakuum über NaOH zur Trockne gebracht. Diese hochmolekularen Stoffgemische wurden in einem Borat-Bernsteinsäure-Puffer von pH 5,8 vergleichsweise papier-

Abb. 5. Gealterter Kartoffelknollensaft gesunder Ackersegenknollen wie vorher elektrophoretisch aufgenommen

Abb. 6. Gealterter Kartoffelknollensaft rollkranker Ackersegenknollen wie vorher elektrophoretisch aufgenommen

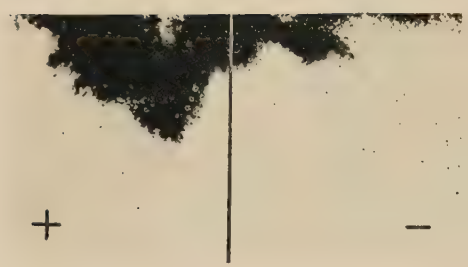


Abb. 7. Säurelöslicher Extrakt aus Preßrückstand gesunder Knollen wie vorher elektrophoretisch aufgenommen

Abb. 8. Säurelöslicher Extrakt aus Preßrückstand rollkranker Knollen

elektrophoretisch und unter den l. c. beschriebenen Bedingungen polarographisch untersucht.

Die polarographischen Kurven ließen dann bei bestimmten Konzentrationen eine deutlichere Differenzierung der beiden Stoffe erkennen als die Papierelektrophorese (Abb. 9 bzw. 7 u. 8). Ein Schluß auf die Art dieser Stoffe kann aus den Polarogrammen noch nicht gezogen werden, da der Kurvenverlauf mit keiner der bisher untersuchten Stoffgruppen (l. c.) größere Ähnlichkeit zu haben scheint, sondern vorläufig nur mit einigen noch unveröffentlichten polarographischen Kurven von Rohproteinasen Ähnlichkeit besitzt.

Zur Klärung dieser Fragen sollen Rohproteinasen sowie die beschriebenen Kartoffelextrakte in definierte Stoffe zerlegt werden, worüber später berichtet werden soll.

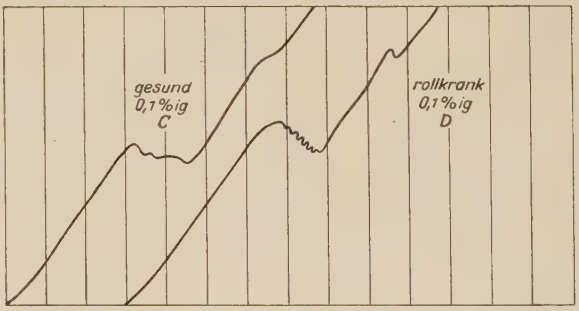


Abb. 9. Extrahierte Stoffe polarographisch aufgenommen. C = Extrakt aus Preßrückstand gesunder Knollen 0,1-prozentig, D = Extrakt aus Preßrückstand rollkranker Knollen 0,1prozentig

Versuche

1. Darstellung eines Proteins aus Kartoffelknollen (Sieglinde; Präparat 8b)

4 Pfund Kartoffeln wurden Anfang Dezember 1950 gerieben, abgepreßt und nach Zusatz von Aktivkohle und Kieselgur durch Faltenfilter klar filtriert. Es wurde mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, nach 1/2 Std. bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert, das Sediment in wenig Wasser gelöst, vom Ungelösten abzentrifugiert, erneut bei Halbsättigung mit Ammonsulfat gefällt und nach Zentrifugieren wie vorher in Wasser gelöst. Das Sediment löste sich nach der 2. Fällung völlig klar

und wurde zuerst gegen Leitungswasser, dann dest. Wasser ausdialysiert, von einer Fällung abzentrifugiert und die Lösung über festem Ätznatron im Vakuum zur Trockne gebracht. Ausbeute 232 mg bräunliches amorphes Pulver, in Wasser, Pufferlösung, 25 %iger Harnstofflösung usw. nur teilweise oder nicht löslich. Unter Korkverschluß im Gläschen aufbewahrt, war im März 1951 das Präparat in Wasser glatt löslich. Analog verhielt sich ein Präparat, das ohne Filtration nur nach Zentrifugieren des Preßsaftes auf gleiche Weise dargestellt worden war.

Das Präparat 8b wurde über $CaCl_2$ zugleich mit γ-Globulin nachgetrocknet und anodisch polarographisch aufgenommen. Es ergibt Kurven, die die größte Ähnlichkeit mit γ-Globulin besitzen, zeigt jedoch in der 2. Konzentration (0,2 %ig) auch Ähnlichkeit mit Serumalbumin (Abb. 1 u. 2).

2. Papierelektrophorese von frischem Preßsaft gesunder und rollkranker Ackersegen-Knollen. Abb. 3 u. 4

Gesunde und stark rollkranke etwas angekeimte Knollen der Sorte Ackersegen wurden gemahlen und der Rohsaft zentrifugiert. Der Saft der kranken Knollen wurde nach Verdünnen mit Wasser und Versetzen mit Ammonsulfatlösung auf gleiche Eiweißkonzentration gebracht (Messung nephelometrisch im Pulfrich-Photometer in der Durchsicht). Dann wurden je 30 cbmm linienförmig auf Whatmanpapier Nr. 1 aufgetragen und in Borax-Bernsteinsäurepuffer nach Kolthoff von pH 5,8 bei einer angelegten Spannung von 220 V, 3,0—3,5 mA 16 Std. elektrophoriert. Papierbreite 5 cm mit je einer gleichzeitig im selben Apparat laufenden Kontrolle. Die Streifen wurden nach Th. Wieland (5) mit Azokarmin B (Phenyl-rosindulintrisulfosäure) gefärbt, nach Aufsteigenlassen einer Cu-Lösung quer zur Elektrophoreserichtung mit Rubeanwasserstofflösung besprüht. Dann wurde in einfacher Weise durch Belichten nach Auflegen auf Photopapier ein Negativ gewonnen.

3. Papierelektrophorese eines gealterten Sammelsaftes gesunder und rollkranker Knollen. Abb. 5 u. 6

Säfte aus gesunden und rollkranken Knollen, die im Herbst 1950 nach Versetzen mit Kohle und Kieselgur durch Filtration geklärt worden waren und bis Februar 1951 unter Toluol bei 4 ° im Kühlschrank gestanden hatten, wurden nach Zentrifugierung und entsprechender Verdünnung des kranken Saftes elektrophoriert. Es wurden je 2 ccm Saft mit 1 ccm n/1 NaOH versetzt, mit 0,8 ccm n/1 HCl bis zur beginnenden Trübung neutralisiert, von diesen Lösungen je 50 cbmm auf je 2 Papierstreifen von 5 cm Breite aufgetragen und in einem Borax-HCl-Puffer nach Sörensen vom pH 8,0 bei 6—7 mA (1,5—1,7 mA pro Streifen) 21 Std. der Elektrophorese unterworfen (Abb. 8 u. 9).

4. Elektrophorese und anodische Polarographie eines Extraktes aus Preßrückständen gesunder und rollkranker Knollen der Sorte Ackersegen.

Je 35 g lufttrockene Preßrückstände mehrerer gesunder sowie blattrollkranker Knollen wurden zerkleinert, mit 140 ccm Glykokollpuffer vom pH 13 nach SÖRENSEN übergossen, 3 Std. bei 40—44 ° gehalten, abgenutscht, mit 20 ccm 2n HCl unter Rühren und Schütteln bis zur stark sauren Reaktion versetzt, einige Zeit stehen gelassen, zentrifugiert, in fließendem Leitungswasser dialysiert und über NaOH im Vakuum zur Trockne gebracht. Ausbeute 200 mg. (Präparate C und D.)

Die Präparate wurden wie vorher der Papierelektrophorese unterworfen (Borax-Bernsteinsäure-Puffer von pH 5,8. 30 cbmm 5 %ige Lösung auf 5 cm breiten Streifen. Laufzeit 16 Std. bei 4,0 mA.) (Abb. 7 und 8) und vergleichsweise polarographisch aufgenommen (Abb. 9).

Literaturverzeichnis

1. BAWDEN, F. C., Pflanzenviren und Viruskrankheiten. (Historische Übersicht.) Waltham, Mass. 1943.
2. KANNGIESSER, W., Über die polarographische Aufnahme von Proteinen. Ztschr. f. physiol. Chemie **287**, 141 (1951).
3. PFEIL, E. und KANNGIESSER, W., Polarographische Charakterisierung hochmolekularer Naturstoffe. Koll. Ztschr. **121**, 77 (1951).
4. TURBA, F. und ENENKEL, H. J., Elektrophorese von Proteinen in Filtrierpapier. Naturwiss. **37**, 93, (1950).
5. WIELAND, TH. und WIRTH, LISELOTTE, Retentionsanalyse von Papierelektropherogrammen natürlicher Proteingemische. Angew. Chem. **62**, 473, (1950).

Aus dem Institut für physiologische Botanik der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig

Untersuchungen über die Einwirkung von Sulfonamiden und Sulfonen auf Getreideroste

II. Weitere Untersuchungen über die rosthemmende Wirkung

Von

K. Hassebrauk

1. Einleitung

Meine ersten Untersuchungen über die chemotherapeutische Verwendungsmöglichkeit von Sulfonamiden bei Getreiderostinfektionen hatten unter Gewächshausbedingungen teilweise sehr befriedigende Ergebnisse erbracht (Hassebrauk, 5). p-Aminobenzolsulfonamidopyrimidin und seine methylierten Abkömmlinge (z. B. Debenal und Aristamid) sowie das gut wasserlösliche Ladogal, ein p-Aminobenzolsulfonoxymethylamid in glukosidsulfonsaurer Bindung, erwiesen sich unter einer größeren Anzahl untersuchter Präparate des Handels als besonders wirksam. Der chemotherapeutische Index war je nach Getreideart verschieden. Während sich bei Weizen, Roggen und Gerste ein relativ günstiger Index zeigte, konnten die mit Hafer durchgeführten Versuche wegen der fast durchweg sehr starken phytotoxischen Nebenwirkungen nicht zufriedenstellen.

Nachstehend wird kurz über einige Versuche berichtet, die zur Erweiterung der ersten grundlegenden Erkenntnisse dienen sollten.

2. Versuche über die Sulfonamidwirkung auf andere Rostarten

Die Untersuchungen waren bisher im wesentlichen mit *Puccinia triticina*, in geringerem Umfange mit *P. simplex*, *P. coronata* und *P. dispersa* durchgeführt worden. Dagegen lagen noch keine Erfahrungen mit Schwarz- und Gelbrost vor.

Versuche mit *P. graminis tritici* wurden an der Sorte Rüfenach 6 durchgeführt. Der Weizen wurde in Anger angezogen, die Versuchspflanzen erhielten am Tage des Beimpfens 1500 bzw. 2000 mg Ladogal auf 100 qcm Bodenoberfläche. Die durchschnittliche Temperatur des Gewächshauses während der Versuchsdauer betrug 24,5 °. Bei Abschluß des Versuches zeigten die unbehandelten Kontrollpflanzen Infektionstypus IV. Die mit Ladogal behandelten Pflanzen waren völlig befallsfrei (Typus i). Der Wuchs der Pflanzen war normal; an den Primärblättern waren zum Teil sehr geringe Spitzennekrosen zu beobachten.

Zu den mit *P. glumarum* durchgeführten Versuchen wurde Michigan-Amber-Weizen verwendet. Als Versuchsboden diente sandiger Lehm. Die Durchschnittstemperatur während der Versuchsdauer betrug 15,4 °. Am Tage des Beimpfens erhielten die Versuchspflanzen 1700 bzw. 2500 bzw. 3200 mg Ladogal je 100 qcm Bodenfläche. Nach 14 Tagen fruktifizierten die Kontrollpflanzen mit Infektionstypus IV. Alle behandelten Pflanzen zeigten Typus i. Die mit 1700 mg Ladogal versorgten Pflanzen wichen im Habitus nicht von den Kontrollen ab. Die beiden stärkeren Gaben hatten geringfügige Wuchshemmung zur Folge. Die zweiten Blätter der hiermit behandelten Pflanzen ließen außerdem in der Wuchszone eine schwache chlorotische Aufhellung erkennen.

Ladogal wirkt gegen Weizenschwarz- und -gelbrost demnach ganz ähnlich wie gegen Weizenbraunrost. Die beiden Rostarten werden durch ausreichende Aufwandmengen Ladogal völlig an der Fruktifikation gehindert, ohne daß — von höheren Konzentrationen abgesehen — die Wirtspflanzen stärkere sichtbare Schädigungen erleiden. Eine Abhängigkeit der Wirkung von der Temperatur war nicht festzustellen.

Die früheren Untersuchungen hatten für die verschiedenen Getreiderostarten hinsichtlich der Rostunterdrückungsmöglichkeit durch Sulfonamide im Prinzip übereinstimmende Feststellungen erbracht. Wenn hin und wieder, speziell bei *P. coronata* und *P. dispersa,* abweichende Befunde erzielt wurden, so dürften sie nach allen sonstigen Erfahrungen wohl vornehmlich zu Lasten der Wirtsarten zu buchen sein. Die mit *P. graminis* und *P. glumarum* erhaltenen Befunde sprechen für die Berechtigung dieser Annahme, da sie sich mit den Resultaten decken, die mit der gleichfalls auf Weizen parasitierenden *P. triticina* gewonnen wurden.[1])

3. Versuche über die Dauer der Sulfonamidwirkung

In den früher beschriebenen Versuchen war das Sulfonamid den Versuchspflanzen zunächst wenige Tage, im Höchstfalle vier Tage vor dem Beimpfen verabfolgt worden. Nachdem sich herausgestellt hatte, daß die rostunterdrückende Wirkung sehr schnell einsetzt, wurde dann bei der Mehrzahl der späteren Versuche das Sulfonamidpräparat erst am Tage des Beimpfens gegeben. Um festzustellen, wie sich das Sulfonamid über längere Perioden auf den Rost wie auf die Wirtspflanzen auswirkt, wurde ein sich über mehrere Wochen erstreckender Versuch mit Michigan Amber und *P. triticina* durchgeführt.

Der Weizen wurde am 2. März 1951 in größeren Blumentöpfen von 12,5 cm oberem Durchmesser in Anger ausgelegt. 14 Tage nach dem Auslegen beginnend, wurde in Abständen von drei Tagen, späterhin von Tag zu Tag,

[1]) Einige Versuche zu Löwenmaulrost brachten gleichfalls sehr gute Ergebnisse. Mit *P. antirrhini* beimpfte Topfpflanzen, die mit 1800 mg Ladogal je 100 qcm Bodenfläche am Tage des Beimpfens behandelt wurden, blieben völlig rostfrei, während es auf den unbehandelten Kontrollpflanzen zu einem starken gleichmäßigen Befall kam. Nebenwirkungen irgendwelcher Art wurden auch nach Wochen nicht beobachtet.

den Versuchspflanzen eine Ladogalgabe von 1600 mg pro 100 qcm Bodenoberfläche verabfolgt. Am 6. April wurden die zweiten Blätter der Pflanzen mit *P. triticina* beimpft. Bis zu vier Tagen nach dem Beimpfen wurde weiterhin einigen Versuchstöpfen Ladogal gegeben. Bei Abschluß des Versuches am 16. April zeigte sich folgendes Bild:

In den Fällen, wo Ladogal vor der Beimpfung angewendet worden war, wurde der Rostbefall völlig unterdrückt. Sämtliche Pflanzen zeigten Infektionstypus i-O. Wenn das Ladogal nach der Beimpfung zugesetzt wurde, blieben etwa zwei Drittel der Versuchspflanzen auch immer noch befallsfrei, auf dem restlichen Drittel kam es zu lockerem Pustelausbruch. Es zeigte sich also einmal, daß Ladogal für eine Zeit von zumindest vier Wochen nach der Zugabe zum Boden der Versuchsgefäße seine rostunterdrückende Wirkung unvermindert entfaltet, und es bestätigte sich zum andern die schon früher gewonnene Erfahrung, daß ein wasserlösliches Sulfonamid wie das Ladogal sehr schnell bei Anzucht der Pflanzen in Blumentöpfen systemisch aufgenommen wird.

Nicht minder aufschlußreich war der Versuch nun aber hinsichtlich der phytotoxischen Nebenwirkungen des Sulfonamids, die bei allen bisher mit Weizen durchgeführten Untersuchungen bei der Kürze der Versuchsdauer fehlten oder unbedeutend waren, soweit nicht zu hohe Konzentrationen gewählt wurden. Bei längerer Anzucht in dem mit der relativ starken Gabe von 1600 mg Ladogal behandelten, beschränkten Bodenvolumen kam es zu starken Wuchshemmungen der Versuchspflanzen. Erst die Pflanzen, die 14 Tage oder noch kürzere Zeit vor Versuchsabschluß mit Ladogal behandelt worden waren, ließen Schädigungen nicht mehr erkennen. Inwiefern hier neben der kürzeren Einwirkungszeit auch eine größere Toleranz der inzwischen stärker entwickelten Pflanzen eine Rolle spielt, läßt sich an Hand des Versuches nicht entscheiden.

4. Untersuchungen über die Abhängigkeit der Sulfonamidwirkung von der Bodenart

Es hatte sich in unseren früheren Untersuchungen herausgestellt, daß die rostunterdrückende Wirkung verschiedener organischer Substanzen sehr stark von der Beschaffenheit des Bodens abhängt, in dem die Versuchspflanzen angezogen werden (Hassebrauk, 2). Je stärker die Böden mit humosen Bestandteilen durchsetzt waren, desto mehr wurde die rostmindernde Wirkung abgeschwächt. Eine entsprechende Prüfung des Sulfonamids Ladogal brachte Ergebnisse, die aus der Zusammenstellung in Tab. 1 zu ersehen sind.

In Bausand ohne und mit Nährlösung wirkte Ladogal völlig rostunterbindend, unabhängig davon, ob eine physiologisch saure oder alkalische Nährlösung verwendet wurde. Die nach Anzucht der Pflanzen in Anger erzielten Ergebnisse entsprechen den üblichen Erfahrungen. Bei Anzucht in Kompost läßt die Sulfonamidwirkung nach, und bei Anzucht in Torf ist nur nach der stärkeren Gabe von Ladogal eine ganz geringe Abschwächung der Fruktifikation gegenüber den Kontrollpflanzen zu beobachten. Die Uredo-

Tabelle 1

Die Beeinflussung des Befalls mit *P. triticina* durch Ladogal nach Anzucht der Wirtspflanzen in verschiedenen Bodenarten

Weizensorte: Michigan Amber. Beimpft: 12. März 1951. Ladogal gegeben: 12. März 1951. Abschluß des Versuches: 22. März 1951. Durchschnittstemperatur 18,0 °.

++++ = voller Befall. ●●●● = *befallsfrei*

Bodenart	Rostbefall		
	Kontrolle unbehandelt	nach Ladogalgaben von	
		1500 mg/100	2500 mg/100
Bausand	●+++	●●●●	●●●●
Bausand + Nährlösung A[1])	++++	●●●●	●●●●
Bausand + Nährlösung B[2])	++++	●●●●	●●●●
Anger	++++	●●●◐	●●●●
Kompost	++++	●●◐+	●●●◐
Verrotteter Torf	++++	++++	●+++

[1]) $Ca(NO_3)_2$ 0,5; KNO_3 0,2; $MgSO_4$ 0,2; KH_2PO_4 0,2; KCl 0,2; $FeCl_3$ Spuren auf 1000,0 H_2O.

[2]) $(NH_4)_2SO_4$ 0,4; $MgSO_4$ 0,2; $CaH_4(PO_4)_2$ 0,2; KCl 0,2; $FeCl_3$ Spuren auf 1000,0 H_2O.

lager, die auf den Pflanzen in Kompost trotz Sulfonamidbehandlung gebildet wurden, zeigten die früher schon mehrfach bei der Verabfolgung unzureichender Gaben von Sulfonamid festgestellte goldgelbe Farbe. Wie erwähnt, sind solche Uredosporen nicht keim- und infektionsfähig.

In einem anderen Versuche wurden die Pflanzen (Michigan Amber) teils in Torf, teils in im Dampftopf sterilisiertem Torf angezogen und am Tage des Beimpfens mit Braunrost mit verschieden starken Konzentrationen Ladogal behandelt. Während die in gewöhnlichem Torf angezogenen Pflanzen durchweg starken, gleichmäßigen Pustelausbruch aufwiesen, ganz gleich, ob sie mit Ladogal versorgt waren oder nicht, ergab sich bei den in sterilisiertem Torf herangewachsenen Pflanzen ein ganz anderes Bild. Nach einer Gabe von 1500 mg Ladogal zeigten die Pflanzen gleichmäßig lockeren Pustelausbruch, bei 2000 mg waren zwei Drittel der Versuchspflanzen befallsfrei, ein Drittel wies Einzelpustelbesatz auf; und erst nach 2500 mg Ladogal ergab sich der Infektionstypus i.

Die mit dem Sulfonamid Ladogal erzielten Ergebnisse decken sich durchaus mit den seinerzeit mit anderen Chemikalien gewonnenen Befunden. Je reicher der Boden der Anzuchtgefäße an humosen Bestandteilen ist, desto mehr

wird die rosthemmende Wirkung abgeschwächt. Da dieses Resultat seinerzeit bereits mit völlig heterogenen Substanzen in stets gleichsinniger Art erhalten wurde, lag die Annahme nahe, daß die Erscheinung auf rein physikalische Vorgänge zurückzuführen sei. Diese Vermutung schien um so mehr berechtigt, als der pH der Böden keine Rolle spielte und das Bewässern der Pflanzen mit Torfauszügen keinen Einfluß auf die rosthemmende Wirkung ausübte. Die nunmehr mit Ladogal erhaltenen Befunde bestätigen diese Annahme und sprechen dafür, daß in erster Linie adsorptive Vorgänge für das Nachlassen der rosthemmenden Wirkung verantwortlich zu machen sind. Auf Grund der in sterilisiertem Torf erhaltenen Ergebnisse könnte noch die Möglichkeit erwogen werden, daß mikrobiologische Prozesse an der Erscheinung beteiligt sind. Es ist in diesem Zusammenhang auf Beobachtungen von WINTER und WILLEKE (7) zu verweisen, die in Untersuchungen mit Penicillin und Streptomycin erzielt wurden. Neben starker Adsorption wirkte in natürlichen Böden, vor allem in Kompost, eine bedeutende mikrobielle Zersetzung verringernd auf die Wurzelaufnahme von Penicillin ein, während dies bei Streptomycin nicht festzustellen war. Nach allen mit Sulfonamiden gemachten Erfahrungen ist die Annahme abzulehnen, daß mikrobiologische Prozesse in nennenswertem Ausmaß zur Erklärung der unterschiedlichen Aufnahme aus verschiedenartigen Bodentypen herangezogen werden könnten. Dagegen spricht überzeugend die Feststellung, daß in Anger die Ladogalwirkung wochenlang in unverminderter Stärke anhält, und daß die Rosthemmung in unbehandeltem Torf selbst schon bei denkbar kürzester Einwirkungszeit ausbleibt, obwohl doch mit relativ sehr hohen Konzentrationen gearbeitet wurde.

Für das in Frage stehende Problem sind auch Versuchsergebnisse von CHAPMAN (1) von Interesse, der die chemotherapeutische Wirkung eines Sulfonamids auf eine andere Mykose nachweisen konnte. CHAPMAN stellte fest, daß N-(4-Nitrophenyl)-3,4-Dichlorobenzensulfonamid die Erkrankung von Tomaten an *Fusarium lycopersici* zu unterbinden vermag, dagegen nicht den Befall von Ulmen mit *Ceratostomella ulmi*. Das unterschiedliche Verhalten wird damit erklärt, daß das Sulfonamid infolge starker Adsorption an Zellulosemembranen überwiegend bereits in den Wurzeln festgehalten wird. Chemikalien, die sich gegen die Ulmenkrankheit als chemotherapeutisch wirksam erwiesen, wie z. B. 8-Hydroxychinolinbenzoat, sind demgegenüber sehr beweglich, wie auch in Versuchen mit Filtrierpapier aufgezeigt werden konnte. Adsorptionsvorgänge an den verschiedensten Oberflächen spielen also offenbar bei der unterschiedlichen Wirkung von Chemotherapeuticis eine bedeutsame Rolle.

5. Spritzversuche mit Ladogal

In der Mehrzahl aller bisher durchgeführten Versuche wurden die Präparate den Pflanzen über den Boden durch die Wurzeln zugeführt. Daß eine Aufnahme wasserlöslicher Sulfonamide auch durch die Blätter möglich ist, wurde in einigen Versuchsreihen dadurch nachgewiesen, daß die Versuchspflanzen nach dem Haften der Infektion für einige Nächte mit den oberirdischen Teilen in verdünnte Lösungen der betreffenden Substanzen einge-

hängt wurden. Im Hinblick auf eine gegebenenfalls in Erwägung zu ziehende praktische Anwendung von Chemikalien dieser Wirkungsweise verbietet sich naturgemäß eine derartige Anwendungsart, und es war daher zu prüfen, welche Konzentrationen zur Rostunterdrückung erforderlich sind, wenn ein nach den bisher gewonnenen Erfahrungen gut wirksames Sulfonamid auf die Blätter der Versuchspflanzen verspritzt wird.

Die Versuche wurden unter Gewächshausbedingungen an Keimpflanzen von Michigan Amber durchgeführt, die in der üblichen Weise in Blumentöpfen in Anger angezogen waren und deren erstes Blatt mit *P. triticina* beimpft worden war. 24 Stunden nach dem Beimpfen wurden je 20 Versuchspflanzen mit 60 ccm wäßriger Ladogallösung bespritzt, wobei vermieden wurde, daß Teile der Lösung an den Pflanzen herabliefen und in den Boden gelangten. Konzentrationen bis 0,5 % Ladogal erwiesen sich als völlig wirkungslos; die Pflanzen zeigten den gleichen starken Befall wie die Kontrollen. Mit einer 1 %igen Lösung gelang es, den Rostbefall merklich herabzusetzen, vereinzelt sogar völlig zu unterdrücken. Bei einer Wiederholung des Versuches wies aber ein Viertel der Pflanzen bei dieser Konzentration immer noch normal starke Fruktifikation auf. Auch die Anwendung einer 3 %igen Ladogallösung führte immer noch nicht zu einer restlosen Rostunterbindung, da auf der Hälfte der Pflanzen noch vereinzelte Pusteln zur Entwicklung kamen. Eine praktisch völlige Verhinderung der Fruktifikation ließ sich erst durch eine 6 %ige Ladogallösung erzwingen. Durch die 3 %ige Lösung wurden aber mehrfach, durch die 6 %ige Lösung stets auf den Primärblättern Spitzennekrosen hervorgerufen. Die Versuchsergebnisse sind wenig zufriedenstellend, wenngleich sie nicht verallgemeinert werden dürfen, da Ladogal auch bei Zufuhr durch die Wurzeln erst bei relativ hohen Aufwandmengen rostunterdrückend zu wirken pflegt. Bei Anzucht in Töpfen kann aber nach diesen Erfahrungen ein Spritzen von Sulfonamiden nicht verantwortet werden, da auf dem Wege über die Wurzeln wesentlich geringere Aufwandmengen zuverlässiger wirken.

Mitchell und Mitarbeiter (6) haben gleichfalls Spritzversuche mit Sulfonamidderivaten zu *P. graminis* durchgeführt. Unter mehreren geprüften Sulfonamiden bewährte sich das Natriumsalz von Sulfadiazin am besten und erwies sich bereits in Konzentrationen von 0,1 % wirksam; 0,4 %ige Lösungen hemmten aber schon das Pflanzenwachstum. Da aber Einzelheiten der Methodik und der Ergebnisse aus dem von den Autoren vorgelegten Kurzbericht nicht zu ersehen sind, lassen sich keine Vergleiche mit den von mir gewonnenen Beobachtungen anstellen.

6. Feldversuch mit Ladogal

Es ist von mir früher ausdrücklich hervorgehoben worden, daß eine feldmäßige Anwendung von Sulfonamiden zunächst nicht im Vordergrund des Interesses steht. Sie würde sich bei den handelsüblichen Präparaten schon von vornherein wegen der erforderlichen relativ hohen Aufwandmengen und der dadurch bedingten außerordentlich hohen Kosten verbieten. Daneben wäre

auch erst noch die bedeutsame Frage zu klären, welchen Einfluß auf die Bodenbeschaffenheit, insbesondere die Mikroflora und -fauna, die Zufuhr solcher Substanzen ausübt. Ein von mir durchgeführter Feldversuch sollte daher lediglich prinzipiell darüber Aufschluß geben, wie sich Ladogal unter feldmäßigen Bedingungen verhält. Diese Frage war insofern noch besonders reizvoll, als seinerzeit die in Gewächshausversuchen hochgradig wirkenden Toluolsulfamide im Felde restlos versagt hatten (HASSEBRAUK, 3, 4).

Der von mir durchgeführte Feldversuch konnte nun bezüglich der Einwirkung des Ladogals auf den Rostbefall keine Klärung bringen. Trotz wiederholter künstlicher Infektion mit *P. triticina* kam der Rost auf den mit Strubes General v. Stocken-Winterweizen bestellten Parzellen nur so zögernd und spärlich zur Entwicklung, daß die Befallsunterschiede zwischen den Kontrollparzellen und den mit Ladogal behandelten Parzellen innerhalb der Fehlergrenze lagen und der Versuch infolgedessen in dieser Hinsicht nicht ausgewertet werden konnte. Der Versuch findet aber aus dem Grunde Erwähnung, weil sich herausstellte, daß selbst durch die erstmals am 8. Mai und dann am 12. Juni verabfolgten stärksten Gaben von 300 g Ladogal je qm nicht die geringsten phytotoxischen Nebenwirkungen herbeigeführt wurden.

7. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Fruktifikation von *Puccinia graminis* und *P. glumarum* wird, unabhängig von der Temperatur, völlig unterbunden, wenn den in Töpfen angezogenen Weizenkeimpflanzen am Tage des Beimpfens 1500 mg Ladogal je 100 qcm Bodenoberfläche gegeben werden. — Auch der Befall mit *P. antirrhini* wird durch Ladogal auf Löwenmaulpflänzchen völlig unterdrückt.

2. Die rosthemmende Wirkung von Ladogal bleibt in Gewächshausversuchen an eingetopften Weizenkeimpflanzen für mindestens vier Wochen unvermindert erhalten. An Pflanzen, die mehrere Wochen in mit Ladogal behandeltem Boden stehen, machen sich Wuchshemmungen bemerkbar.

3. Die rosthemmende Wirkung von Ladogal wird zunehmend abgeschwächt, je reicher der Anzuchtboden der Versuchspflanzen an humosen Bestandteilen ist. In Versuchen mit verrottetem Torf als Anzuchtboden ist praktisch eine rosthemmende Wirkung nicht mehr zu beobachten. Nach Sterilisierung des Torfes tritt die rostunterdrückende Wirkung, wenn auch in abgeschwächtem Maße, wieder hervor. Es wird vermutet, daß die Erscheinung vornehmlich auf adsorptive Vorgänge zurückzuführen ist.

4. In Spritzversuchen mit Ladogal zu mit *P. triticina* beimpften Weizenkeimpflanzen konnte eine völlige Rostunterdrückung erst durch mindestens 3 %ige Lösungen herbeigeführt werden. Bei eingetopften Pflanzen kann also dies Verfahren im Hinblick auf die erforderlichen unverhältnismäßig hohen Aufwandmengen nicht empfohlen werden.

5. Ein Feldversuch mit Ladogal konnte wegen zu geringen Rostauftretens nicht ausgewertet werden. Durch Gaben bis zu 300 g Ladogal je qm Boden wurden keine phytotoxischen Nebenwirkungen bei Winterweizen hervorgerufen.

Literaturverzeichnis

1. Chapman, R. A., Relation of specific chemotherapeutants to the infection court. — Phytopath. **41**, 1951. 6.
2. Hassebrauk, K., Weitere Untersuchungen über Getreiderostbekämpfung mit chemischen Mitteln. — Phytopath. Ztschr. **11**, 1938. 14.
3. — —, Beiträge zur chemischen Bekämpfung von Rost auf Kulturpflanzen. — Ang. Bot. **20**, 1938. 366.
4. — —, Abschließende Untersuchungen über die feldmäßige Verwendungsmöglichkeit von p-Toluolsulfamid als innertherapeutisch wirkendes Getreiderostbekämpfungsmittel. — Phytopath. Ztschr. **12**, 1940. 509.
5. — —, Untersuchungen über die Einwirkung von Sulfonamiden und Sulfonen auf Getreideroste. I. Die Beeinflussung des Fruktifikationsvermögens. — Phytopath. Ztschr. **17**, 1951. 384.
6. Mitchell, J. E., Hotson, H. H., and Bell, F. H., The use of sulfanilamide derivatives as eradicant fungicides for wheat stem rust. — Phytopath. **40**, 1950. 873 (Abstract).
7. Winter, A. G. und Lisel Willeke, Über die Aufnahme von Antibioticis durch höhere Pflanzen und ihre Stabilität in natürlichen Böden. — Naturwiss. **38**, 1951. 475.

Besprechungen

Strugger, S. Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Zweite Auflage (Pflanzenphysiologische Praktika, Band II) mit 148 Abbildungen, 225 S. Springer-Verlag, 1949, geb. DM 27,60.

Zellforschung und Zellphysiologie haben in den letzten Jahrzehnten in steigendem Maße an Bedeutung gewonnen, nicht nur für den Botaniker im engeren Sinne, sondern weitgehend auch für den Phytopathologen. Es ist deshalb zu begrüßen, daß es möglich war, das 1935 zum ersten Mal erschienene Buch von STRUGGER in zweiter, wesentlich erweiterter und stark umgearbeiteter Auflage herauszubringen. Das Buch soll in erster Linie das praktische Arbeiten mit der pflanzlichen Zelle vermitteln, es enthält aber neben den praktischen Anweisungen in weitem Umfange das für ein wirkliches Verständnis der Untersuchungsmethoden erforderliche theoretische Handwerkszeug. Besonders zu begrüßen sind vor allem auch die jedem Abschnitt beigefügten Literaturhinweise, die mit teils mehr als 200 Literaturangaben so ausführlich gehalten sind, daß der Forscher in Spezialfragen an Hand der Originalarbeiten sich weiter orientieren kann.

Das Buch gliedert sich in 7 Hauptabschnitte:

I. Die Präparation lebender Pflanzenzellen und Gewebe,
II. Die mikroskopische Untersuchung lebender Pflanzenzellen und Gewebe,
III. Eine sehr ausführlich gehaltene Einführung in die Zytomorphologie und experimentelle Zytologie,
IV. Der plasmolytische Eingriff und seine methodische Auswertung,
V. Die Stoffaufnahme,
VI. Elektrozytologie und Elektrohistologie,
VII. Der Stofftransport.

Für den Phytopathologen dürften zunächst die im II. Abschnitt mitgeteilten Erfahrungen über Hell- und Dunkelfeldanalyse, über die fluoreszenzmikroskopische Untersuchungstechnik und das Phasenkontrastverfahren von besonderem Interesse sein. Ein Urteil über Vorzüge und Nachteile sowie über die Grenzen der praktischen Anwendbarkeit der einzelnen Verfahren gestatten allerdings erst die in den folgenden Abschnitten gebrachten Beispiele und Hinweise. Von speziellem Interesse für den wissenschaftlich arbeitenden Phytopathologen erscheinen dem Referenten vor allem auch die Ausführungen über die Stoffaufnahme (V. Abschnitt). Im dritten Unterabschnitt dieses Kapitels finden wir die grundlegenden Vorgänge bei der Vitalfärbung lebender Zellen, die Farbstoffe, ihre optischen, chemischen und sonstigen Eigenschaften, sowie das verschiedene Verhalten basisch-kathodischer, sauer-anodischer und elektroneutraler Farbstoffe besprochen.

In vielem geht das STRUGGERsche Buch über das hinaus, was man sonst schlechthin unter einem „Praktikum" oder unter „Versuchen" versteht. Insgesamt werden 100 „Versuche" gebracht, wobei aber das Wort „Versuch" sehr weit gefaßt ist. So beginnt der Versuch 86, in dem die Acridinorangefärbung behandelt wird, mit der Beschreibung der Eigenschaften dieses Stoffes, geht dann zur Vitalfärbung lebender Epidermiszellen über, dann zur Färbung toter Epidermiszellen, zur Analyse der Färbung toter Protoplasten und schließlich zur Vitalfärbung von Mikroorganismen.

Vorstehendes Beispiel möge zeigen, in wie gründlicher Weise die bei den einzelnen „Versuchen" zutage tretenden Probleme zur Darstellung gekommen sind. Wir wollen dem Verfasser dankbar sein, daß er es unternommen hat, aus seinem großen Erfahrungsschatz heraus eine wirkliche und umfassende Anleitung zum zellphysiologischen Arbeiten herauszubringen.

G. GASSNER

Kuckuck-Mudra, Lehrbuch der allgemeinen Pflanzenzüchtung. Verlag S. Hirzel-Stuttgart, 1950. 288 Seiten mit 60 Abb. 8°, Hlwd. 14,80 DM.

Das vorliegende Lehrbuch der Pflanzenzüchtung ist in gleicher Weise für Studierende der Landwirtschaft und des Gartenbaues wie aber auch für den praktischen Pflanzenzüchter bestimmt. Hieraus erklärt sich der Doppelcharakter des Buches, das einerseits die erforderlichen theoretischen Grundlagen enthält, andererseits aber die praktischen Zuchtmethoden und die Fragen in den Vordergrund stellt, die mit der praktischen Durchführung der züchterischen Aufgaben in Zusammenhang stehen. Denn auch Auslese und Auswertung von Leistungsprüfungen, Zuchtbuchführung, Schutz und Kontrolle der züchterischen Arbeit, Erhaltungszucht, Vermehrungsanbau und Saatgutkontrolle werden dargestellt.

Das Buch gliedert sich in 4 Teile. Der erste Teil behandelt „Die Formenmannigfaltigkeit, ihre Ursachen und ihre Bedeutung für die Züchtung". Hier werden in kürzester Form und immer unter Hinweis auf die praktische Arbeit des Züchters die genetischen Grundlagen der Pflanzenzüchtung dargelegt: Modifikationen, Neukombinationen, Fortpflanzung, Mutationen, Genzentren und anderes werden besprochen. Der zweite Teil trägt die Überschrift „Die physiologischen Grundlagen der Züchtung", während die wesentlich umfangreicher gehaltenen Teile drei und vier die „Züchtungsmethoden" und den „Zuchtbetrieb" umfassen.

Der Pflanzenpathologe kann sicherlich aus allen Teilen des Buches lernen und wird auch die in den letzten Abschnitten enthaltenen Darlegungen nutzbringend verwenden können. Von besonderem Interesse für den Phytopathologen ist naturgemäß der zweite Teil des Buches über die physiologischen Grundlagen der Züchtung, denn hier werden nicht nur Wachstum, Stoffbildung und Entwicklung, also Periodizität, Vernalisation und Photoperiodismus, sondern vor allem auch Klimaresistenz, Witterungsschäden, Kälte- und Dürreresistenz und schließlich auch Krankheitsresistenz und die Grundlagen der Resistenzzüchtung besprochen. Die Ausführungen geben ein gutes Bild des jetzigen Standes unserer Kenntnisse, wenn auch natürlich im Hinblick auf den mehr praktischen Zweck des Buches auf das Wesen der „Resistenzbedingenden Zustände" nur kurz und mehr nebenbei eingegangen wird. Immerhin geben die Ausführungen dem Anfänger und dem praktischen Züchter die Möglichkeit, sich über dieses heute besonders wichtig gewordene Gebiet zu orientieren.

Das Buch soll nach dem Vorwort der Verfasser die Lücke ausfüllen, die zwischen den vorhandenen kleinen, kurzgefaßten Leitfäden, die zu wenig bieten, und den umfangreichen und als Einführung in die Pflanzenzüchtung kaum geeigneten Handbüchern besteht. Von diesem Gesichtspunkt aus ist das Buch besonders zu begrüßen, zumal, wie schon erwähnt, auch die neuesten Erkenntnisse gebührend berücksichtigt sind.

G. Gassner

Scheibe, Arnold, Einführung in die Allgemeine Pflanzenzüchtung. 475 Seiten, 120 Abb. Verlag Eugen Ulmer-Stuttgart. Kart. 18,— DM, Leinenband 19,60 DM.

Die vorliegende „Einführung in die Allgemeine Pflanzenzüchtung" ist als Lehrbuch für Studierende der Landwirtschaft, des Gartenbaues und der Forstwirtschaft sowie für die züchterische Praxis bestimmt und stellt eine erweiterte Wiedergabe der vom Verf. seit Jahren gehaltenen Vorlesungen über Pflanzenzüchtung dar. Die Darstellung in Form der „Vorlesungen" wurde beibehalten, obwohl die ursprüngliche Vortragsform unter den vorgenommenen inhaltlichen Erweiterungen und Ausgestaltungen leiden mußte. Dem Referenten will allerdings die Gliederung in Vorlesungen wenig geeignet scheinen, den Überblick und die Orientierung über Aufbau und Inhalt des Buches zu erleichtern.

Das Buch gliedert sich einerseits in 30 Vorlesungen, andererseits, was aber nur in dem Vorwort und in der in der Einleitung gegebenen Übersicht zum Ausdruck kommt, in 3 Hauptteile. In der ersten Vorlesung werden Begriff und Wesen der Züchtung behandelt und ein historischer Abriß der Pflanzenzüchtung gegeben. Den ersten Hauptteil des Buches (Vorlesungen 2—5 = Seite 38—94) bilden die „Fortpflanzungsbiologischen Grundlagen", in denen die botanischen Grundkenntnisse über die pflanzliche Fortpflanzung zusammengestellt sind. Allerdings mit Ausnahmen: Cytologie, Generationswechsel, Entwicklungsrhythmik, Pfropfbastarde u. a. werden erst im zweiten Hauptabschnitt „Vererbungsbiologische und cytologische Grundlagen" (Vorlesungen 6—22 = Seite 95—324) gebracht. Im Rahmen dieses Teiles werden Kernteilung und Kernverhältnisse, Erbanlagen, Modifikationen, Mendelsche Gesetze, Mutationen, Bastarde, Pfropfbastarde, Inzucht und Heterosis behandelt. Der dritte Hauptteil schließlich (Vorlesungen 25—30 = Seite 325—440) enthält die „Züchtungstechnischen Grundlagen", wendet sich also in erster Linie an die züchterische Praxis.

Alle Teile des Buches zeigen, daß der Verf. nicht nur die Materie ausgezeichnet beherrscht, sondern, daß es ihm vor allem auch gelungen ist, den behandelten Stoff dem Leser innerlich nahe zu bringen und Verständnis für die großen Probleme der Pflanzenzüchtung zu erwecken. Besonders zu begrüßen ist es, daß der Verf. die Züchtungsforschung unmittelbar auf der botanischen Grundwissenschaft aufbaut und immer wieder die wissenschaftlichen Fragen und Probleme in den Vordergrund stellt. Er will so nicht nur den Werdegang des bisher Erreichten klarstellen und Wissen vermitteln, sondern damit gleichzeitig auch Ansatzpunkte für die Weiterentwicklung von Wissenschaft und Praxis aufzeigen. Eine wesentliche und dankenswerte Erweiterung der gebrachten Ausführungen stellen schließlich auch die am Schlusse des Buches zusammengestellten Literaturhinweise dar.

Aber gerade, weil es sich bei dem Buch von Scheibe um ein vielversprechendes Werk handelt, glaubt der Referent auf einige Punkte besonders hinweisen zu müssen, die nach seiner Meinung abgeändert und verbessert werden müßten. Das wäre zunächst nochmals die Herausarbeitung einer schärferen Disposition, um die Orientierung und die Übersicht zu erleichtern. Auch in der Stoffanordnung müßten wohl einige Änderungen vorgenommen werden. Meiosis und Generationswechsel gehören nicht hinter, sondern vor die Entwicklung der Samenanlage und vor die Befruchtung. Wünschenswert wäre weiter der Ersatz vieler im Rasterverfahren hergestellter Abbildungen, die den heute an ein gutes Lehrbuch zu stellenden Ansprüchen meist nicht genügen, durch neue und bessere Darstellungen. Noch wichtiger erscheint dem Ref. eine völlige Neugestaltung des alphabetischen Sachregisters. Das Buch enthält sehr viele und wichtige Einzelheiten, aber das Sachregister ist viel zu unvollständig, um sich zurechtfinden zu können. Wenn z. B. alle Angaben über Kartoffel, Tomate, Eierfrucht einfach unter dem Stichwort Solanum stehen, und wenn dann hier insgesamt und ohne jeden weiteren Hinweis nacheinander 35 Seitenhinweise gebracht werden, so erschwert dies den praktischen Gebrauch des Buches ganz außerordentlich. Und schließlich sollte die am Schlusse des Buches gebrachte Zusammenstellung von Veröffentlichungen des Verlages Ulmer in Fortfall kommen; der Leser erwartet zum Schlusse des Buches das Sachregister und will nicht erst jedesmal eine Anzahl von Reklameseiten zurückblättern, um schließlich auf das Sachregister zu stoßen.

G. Gassner

Gäumann, E., Die Pilze. Verlag Birkhäuser-Basel, 1949. Preis geb. Fr. 38,—.

Es ist keine leichte, aber vom Verfasser hervorragend gelöste Aufgabe, auf dem Raum von 350 Seiten, von denen der Platz für 440, meist größere Textabbildungen abgeht, die Entwicklungsgeschichte des Pilzreiches und die Morphologie der Pilze in übersichtlicher, alles Wesentliche in gleichmäßiger Weise berücksichtigender Form darzustellen.

Die Einteilung des Pilzwerkes erfolgt in der heute üblichen Weise: Archimycetes, Phycomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes. Der Fungi imperfecti wird im Hinblick auf den künstlichen Charakter dieser Pilzgruppe nur auf einer einzigen Seite gedacht. Der Schwerpunkt des Werkes liegt in der Darstellung der verwandtschaftlichen und entwicklungsgeschichtlichen Beziehungen der einzelnen Pilzgruppen und in dem Bestreben, die in den wissenschaftlichen Arbeiten zerstreuten Einzelerkenntnisse als Bausteine zu einem natürlichen System des Pilzreiches zusammenzufügen.

Bakterien und Schleimpilze sind aus verständlichen Gründen in dem vorliegenden Werk nicht mitbehandelt. Mit Ausnahme der wohl aus den Siphonales hervorgegangenen Oomyceten werden alle anderen Pilze einheitlich von Flagellatenartigen Organismen abgeleitet. Die durch nackte Vegetationskörper und übereinstimmende Merkmale der Fortpflanzung ausgezeichneten Archimycetes oder Urpilze bilden einen selbständigen, blind endenden Ast des Pilzreiches. Der Aufstieg zu den höheren Pilzen erfolgt über die Chytridiales und Zygomycetes zu den Plectascales und über diese zu den anderen Gruppen der Ascomycetes. Die Basidiomycetes werden von den höheren Ascomyceten (Discomycetes) abgeleitet. Dieser Übergang, also der Ersatz der endogenen Sporenbildung der Ascomycetes durch die exogenen Basidiosporen, wird besonders sorgfältig besprochen; das Erlöschen der Geschlechtsorgane bei gleichzeitiger Erhaltung der Sexualität, die Weiterentwicklung durch Verselbständigung des Paarkernmycels bei gleichzeitiger Erhaltung der Nebenfruchtformen der Ascomyceten, die „Krise der Sexualität" bei den Basidiomyceten, haben eine ausgezeichnete und besonders übersichtliche Darstellung gefunden.

Bei jeder der vier großen Klassen des Pilzreiches, ebenso bei den einzelnen Reihen, Gruppen und Familien, werden jedesmal zunächst die für die vorgenommene Einordnung wichtigen morphologischen Merkmale und die Fortpflanzungsvorgänge dargelegt. Zur Erleichterung des Verständnisses werden hierbei meist tabellarische Übersichten oder nach Möglichkeit auch zusammenfassende schematische Darstellungen vorausgeschickt. Die Einzelheiten werden dann anschließend bei der Besprechung der als Beispiele bzw. Hauptvertreter ausgewählten Pilze gebracht. Hier ist besonderer Wert auf gute Abbildungen gelegt, die meist nicht einfach aus Originalarbeiten entnommen, sondern für den besonderen Zweck des Buches umgezeichnet sind. Im übrigen zeigt sich auch hier in der vorgenommenen Beschränkung der Beispiele der Meister. Mit gutem Grund ist von einer vollständigen Aufzählung und Berücksichtigung aller Familien oder gar Vertreter Abstand genommen und vor allem auf die Berücksichtigung atypischer Pilze mit oft noch zweifelhaftem Entwicklungsgang verzichtet. Der Verfasser will „dem Leser die Mannigfaltigkeit der Pilze naherbringen, ohne ihn darob den roten, entwicklungsgeschichtlichen Faden verlieren zu lassen". Die Darstellung jeder einzelnen Pilzreihe oder -gruppe bildet ein in sich geschlossenes Ganzes, das sich aber zwanglos in den großen Rahmen einreiht. So wird trotz der durchaus individuellen Gestaltung der einzelnen Kapitel niemals das Gesamtziel des Buches vergessen.

Das vorliegende Buch von Gäumann wird vor allem auch von den Phytopathologen aufs wärmste begrüßt. Bei der heutigen Spezialisierung der phytopathologischen Forschung ist es für den einzelnen nicht immer leicht, den allgemeinen Überblick über die pilzliche Systematik und deren Fortschritte aufrechtzuerhalten. In dieser Hinsicht wird das Buch von Gäumann gerade auch dem Phytopathologen ein wertvoller Ratgeber und darum unersetzlich sein.

Gassner

BAND 18, HEFT 1 MAI 1951

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Appel-Berlin, Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller, z. Zt. Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. **G. Gassner**
Braunschweig

und

Prof. Dr. **E. Gäumann**
Zürich

Mit 29 Abbildungen

1951

VERLAG PAUL PAREY, BERLIN SW 68

Phytopath. Z. Bd. 18, **Heft 1** *S. 1—128, Bln. 1951*

INHALT

Abhandlungen

Zogg, Hans, Studien über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. (Mit 20 Abb.) 1

Rümker, Rosmarie von, Über die Ökologie von *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* in der Rhizosphäre anfälliger und nicht anfälliger Pflanzen. (Mit 5 Abb.) 55

Blumer, S., Beiträge zur Kenntnis der Erysiphaceen. 2. Mitteilung. (Mit 3 Abb.) 101

Stapp, C., Eine neue Infektionsmethode mit *Bacterium michiganense*, dem Erreger der bakteriellen Welkekrankheit der Tomaten. (Mit 1 Abb.) 111

Schlösser, Ludwig-Arnold, Viröse Rübengelbsucht an Samenrüben. I. Die Bedeutung des Infektionszeitpunktes für Samenertrag und Samengüte 114

Besprechungen 121

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstr. 44—47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— M. je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.
Honorar für die „Besprechungen" 48,— M. je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Jährlich erscheinen 6 Hefte, deren 4 zu einem Band vereinigt werden.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 2,75 M. Die Hefte sind auch einzeln käuflich.
Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht, spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 22,— DM. **Einzelpreis 23,— DM.**

Im nächsten Heft kommen voraussichtlich folgende Arbeiten zum Abdruck:

Kobel, F., Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr.

Björling, K., Über die Entwicklungsgeschichte, Variabilität und Pathogenität von *Sclerotinia trifoliorum* Erikss.

Orsenigo, M., Contributi alla conoscenza del genere Endothia

Winter, A. G., Untersuchungen über die Förderung der Jugendentwicklung der Hauptgetreidearten durch bodenbewohnende Pilze

Uschdraweit, H. A., Viruskrankheiten der Tomate

Soeben erschien:

Entwicklung und Probleme neuzeitlicher Pflanzenzüchtung

Mendel oder Lyssenko?

Von Dr. HERMANN KUCKUCK

Professor der Pflanzenzüchtung

76 Seiten Kart. 7,80 DM

Der Autor, einer der ganz wenigen deutschen Wissenschaftler, der das Werk des Professors Lyssenko „Agro-Biologie" nicht nur gelesen sondern kritisch durchgearbeitet hat und deswegen wie wenige Wissenschaftler berufen ist, zu dem Thema „Mendel oder Lyssenko" das Wort zu ergreifen, bringt mit dieser weiteste Kreise interessierenden Schrift eine sachliche Gegenüberstellung der Mendelschen Spaltungsgesetze und der nach ihnen arbeitenden modernen Pflanzenzüchtung einerseits und der „Lyssenko- oder Mitschurin-Biologie" andererseits. Er rückt damit die Diskussion um dieses in die Sphäre der Politik gezerrte Thema in das helle Licht sachlich-wissenschaftlicher Auseinandersetzung.

VERLAG PAUL PAREY

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

Begründet von PAUL SORAUER †

Unter Mitarbeit zahlreicher Forscher herausgegeben von

Prof. Dr. h. c. Dr. O. APPEL
Geh. Reg.-Rat, Präsident i. R. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem

Prof. Dr. H. BLUNCK
ehem. Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten in Bonn

I. Band: **Die nichtparasitären und Viruskrankheiten**

1. Halbband, 6. Aufl. 1933. 592 S. m. 123 Textabb. 46,— DM
2. Halbband, 6. Aufl. 1933. 553 S. m. 147 Textabb. 44,— DM

II. Band: **Die pflanzlichen Parasiten** 1. Teil

5. Aufl. 1928. 758 S. m. 125 Textabb. 48,60 DM

III. Band: **Die pflanzlichen Parasiten** 2. Teil

5. Aufl. 1932. 948 S. m. 195 Textabb. 66,— DM

IV. Band: **Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen** 1. Teil

5. Aufl. 1. Lfg. 1950. 427 S. m. 210 Textabb. In Ganzleinen mit Titelbogen und Sachregister. 44,— DM

Die zweite Lieferung wird unter anderem den umfangreichen Abschnitt über die Lepidopteren (Schmetterlinge) enthalten und Ende des Jahres erscheinen

V. Band: **Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen** 2. Teil

5. Aufl. in 4 Lieferungen in Vorbereitung. 1. Lieferung erscheint 1951.

VI. Band: **Pflanzenschutz, Verhütung und Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten**

1. Halbband; 2. Aufl. in 2 Lieferungen in Vorbereitung, erscheint 1951.
2. Halbband. 1941. 740 S. m. 82 Textabb. 52,— DM

Jeder Band ist einzeln käuflich

Das Werk ist das für die Bodenkultur als Handbuch der Pflanzenhygiene grundlegende und in der ganzen Welt maßgebende wissenschaftliche Standardwerk der Pflanzenkrankheiten und des Pflanzenschutzes. Es ist zugleich für die gesamte Weltliteratur das einzige umfassende Handbuch seines Gebietes, das für jeden, der sich auf wissenschaftlicher Grundlage mit Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz beschäftigt, unentbehrlich ist

VERLAG PAUL PAREY

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstraße 44—47 (West-Berlin). Herausgeber: Prof. Dr. G. Gassner, (20b) Braunschweig, Humboldtstraße 1 und Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2. Printed in Germany. Genehmigungsnummer: KB/Z018. Erscheinungsweise: Jährlich 6 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

BAND 18, HEFT 2 AUGUST 1951

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Appel-Berlin, Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller, z. Zt. Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. **G. Gassner** und Prof. Dr. **E. Gäumann**
Braunschweig Zürich

Mit 123 Abbildungen

1951

VERLAG PAUL PAREY, BERLIN SW 68

Phytopath. Z. Bd. 18, **Heft 2** *S. 129—248, Bln. 1951*

INHALT

Abhandlungen

Björling, Karl, Über die Entwicklungsgeschichte, Variabilität und Pathogenität von *Sclerotinia trifoliorum* Erikss. (Mit 92 Abb.) 129

Kobel, Fritz, Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. (Mit 13 Abb.) 157

Orsenigo, Mario, Contributi alla conoscenza del genere *Endothia*.

I. Analisi statistica delle dimensioni delle ascospore di alcune specie. (Mit 5 Abb.) 196

II. Identificazione fra *E. parasitica* (Murr.) P. J. et H. W. And. ed *E. fluens* (Sow.) S. et S. e loro fusione in *E. radicalis* (Schw.) De Not. Considerazioni sulla patogenicità della specie e sulla classificazione del genere 210

Winter, Gerhard A., Untersuchungen über die Förderung der Jugendentwicklung der Hauptgetreidearten durch bodenbewohnende Pilze. (Mit 2 Abb.) 221

Uschdraweit, H. A., Viruskrankheiten der Tomaten. (Mit 11 Abb.) 231

Besprechungen 246

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstr. 44—47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32.— M. je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.

Honorar für die „Besprechungen" 48.— M. je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Jährlich erscheinen 6 Hefte, deren 4 zu einem Band vereinigt werden.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 2.75 M. Die Hefte sind auch einzeln käuflich.

Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 21.40 DM. **Einzelpreis 22.40 DM.**

Aus der Reihe **„Pareys Taschenatlanten“**

Herausgegeben von Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Dr. h. c. O. APPEL

Nr. 9: Hilfsbuch für die Hagelabschätzung

I. Teil, bearbeitet von Prof. Dr. O. SCHLUMBERGER
Zweite neubearbeitete Auflage, 28 Seiten mit 20 ganzseitigen Farbtafeln
nach Originalen von A. Dressel, Kunstdruckpapier

Halbleinen, gebunden 8,40 DM

Nr. 13: Hilfsbuch für die Hagelabschätzung

II. Teil, bearbeitet von Prof. Dr. O. SCHLUMBERGER
Zweite neubearbeitete Auflage, 28 Seiten mit 18 ganzseitigen Farbtafeln
nach Originalen von A. Dressel, Kunstdruckpapier

Halbleinen, gebunden 8,40 DM

Eine sachgemäße Hagelabschätzung liegt im Interesse der Versicherungsnehmer wie der Versicherungsgesellschaften. Genaue Kenntnis der Krankheiten und Schädlinge unserer Kulturpflanzen, ihr Einfluß auf Entwicklung und Ertrag unabhängig vom Hagel sind hierfür Vorbedingung. Beide Teile des Buches sind entsprechend den neuesten Forschungen und Erfahrungen bearbeitet. Teil I schildert vorwiegend die den Ertrag mindernden Schäden, die mit Hagelschäden nicht verwechselt werden können, während Teil I klare Gegenüberstellungen von Schädlingsbefall und Hagelbeschädigungen bringt

Nematoden der Kulturpflanzen Europas

Von Dr. H. GOFFART
Leiter des Instituts für Hackfruchtbau der Biologischen Bundesanstalt Münster i. W.

144 Seiten mit 91 Textabbildungen. Ganzleinen gebunden 18,— DM

Die Kenntnis von den pflanzenparasitischen Nematoden hat im Laufe der letzten Jahrzehnte einen gewaltigen Aufschwung genommen. Die vorliegende interessante Neuerscheinung gibt hervorragende Möglichkeiten, sich über den Stand der Forschung auf diesem Gebiet zu informieren, wobei die Wirtspflanzen unter eingehender Beschreibung der beim Nematodenangriff auftretenden Krankheitserscheinungen in den Vordergrund gestellt sind. Dem Phytopathologen wie dem Botaniker, dem Zoologen und Bodenkundler wird ein ausgezeichneter Einblick in ein wichtiges Teilgebiet der angewandten Wissenschaft vermittelt

---

VERLAG PAUL PAREY

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

Begründet von PAUL SORAUER

Unter Mitarbeit zahlreicher Forscher herausgegeben von

Prof. Dr. h. c. Dr. O. APPEL
Geh. Reg.-Rat, Präsident i. R. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem

Prof. Dr. H. BLUNCK
ehem. Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten in Bonn

I. Band: **Die nichtparasitären und Viruskrankheiten**

1. Halbband, 6. Aufl. 1933. 592 Seiten mit 123 Textabbildungen . . . **46,— DM**
2. Halbband, 6. Aufl. 1933. 553 Seiten mit 147 Textabbildungen . . . **44,— DM**

II. Band: **Die pflanzlichen Parasiten** 1. Teil

5. Aufl. 1928. 758 Seiten mit 125 Textabbildungen . . . . . **48,60 DM**

III. Band: **Die pflanzlichen Parasiten** 2. Teil

5. Aufl. 1932. 948 Seiten mit 195 Textabbildungen . . . . . **66,— DM**

IV. Band: **Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen** 1. Teil

5. Aufl. 1. Lfg. 1950. 458 Seiten mit 210 Textabbildungen. In Ganzleinen mit Titelbogen und Sachregister . . . . . **44,— DM**

Die zweite Lieferung wird unter anderem den umfangreichen Abschnitt über die Lepidopteren (Schmetterlinge) enthalten und Frühjahr 1952 erscheinen

V. Band: **Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen** 2. Teil

5. Aufl. in 4 Lieferungen in Vorbereitung, 1. Lieferung erscheint Frühjahr 1952

VI. Band: **Pflanzenschutz, Verhütung und Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten**

1. Halbband; 2. Aufl. in 2 Lieferungen in Vorbereitung, Lieferung 1 erscheint Ende 1951
2. Halbband. 1941. 740 Seiten mit 82 Textabbildungen . . . . . **52,— DM**

Jeder Band ist einzeln käuflich

Das Werk ist das für die Bodenkultur als Handbuch der Pflanzenhygiene grundlegende und in der ganzen Welt maßgebende wissenschaftliche Standardwerk der Pflanzenkrankheiten und des Pflanzenschutzes. Es ist zugleich für die gesamte Weltliteratur das einzige umfassende Handbuch seines Gebietes, das für jeden, der sich auf wissenschaftlicher Grundlage mit Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz beschäftigt, unentbehrlich ist

VERLAG PAUL PAREY

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstraße 44—47 (West-Berlin). Herausgeber: Prof. Dr. G. Gassner, (20b) Braunschweig, Humboldtstraße 1 und Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2. Printed in Germany.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten.

Erscheinungsweise: Jährlich 6 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

BAND 18, HEFT 3 OKTOBER 1951

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Appel-Berlin, Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller, z. Zt. Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. **G. Gassner** und Prof. Dr. **E. Gäumann**
Braunschweig Zürich

Mit 30 Abbildungen

1951

VERLAG PAUL PAREY, BERLIN SW 68

Phytopath. Z. Bd. 18, Heft 3, *S. 249—364, Berlin 1951*

INHALT

Abhandlungen

BERCKS, R., Weitere Untersuchungen zur Frage der Altersresistenz der Kartoffelpflanzen gegen das X-Virus 249

SIEBS, E., Über die Schorfanfälligkeit von Birnen und die Aussichten auf ihre Resistenzzüchtung. (Mit 8 Abb.) 270

ZOGG, HANS, Untersuchungen über Hagelschäden. III. Gerste. (Mit 2 Abb.) 287

STOLL, KARL, Über die Symptome der Pfeffingerkrankheit der Kirschbäume. (Mit 7 Abb.) 293

BIEDERMANN, W. und MÜLLER, E., Die Inaktivierung des gelösten Kupfers (II) in Fungiziden. (Mit 8 Abb.) 307

DE BRUYN, HELENA L. G., Pathogenic differentiation in *Phytophthora infestans* (Mont.) DeBary. (With 4 figures) 339

Kurze Mitteilungen

BORTELS, H., Fortgeführte Untersuchungen über die Beziehung zwischen Infektionserfolg und Wetterverlauf bei der Kartoffel-Naßfäule. Vorläufige Mitteilung. (Mit 1 Abb.) 360

Besprechungen 363

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.
Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 6 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Bogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 2,75 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich.
Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 21,80 DM Einzelpreis 22,80 DM

Im nächsten Heft kommen voraussichtlich folgende Arbeiten zum Abdruck:

Stoll, K., Über die Symptome der Pfeffingerkrankheit der Kirschbäume

Zogg, H., Untersuchungen über Hagelschäden

Siebs, E., Über die Schorfanfälligkeit von Birnen und die Aussichten auf ihre Resistenzzüchtung

Biedermann, W. und Müller, E., Die Inaktivierung des gelösten Kupfers (II) in Fungiziden

Bercks, R., Weitere Untersuchungen zur Frage der Altersresistenz der Kartoffelpflanzen gegen das X-Virus

De Bruyn, H., Pathogenic Differentiation in *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary

---

Grundriß der Forstpathologie

Von Prof. Dr. F. SCHWERDTFEGER

1950. 210 Seiten mit 139 Textabbildungen. Ganzleinen geb. 13.60 DM

Dieses hervorragende Buch vermittelt einen knappen im wesentlichen aber erschöpfenden Überblick über die Grundtatsachen der Waldkrankheitslehre und macht insbesondere mit den wirtschaftlich wichtigen Krankheiten und Schädlingen des Waldes, ihrer Verhütung und Bekämpfung bekannt. Der in der Praxis stehende Forstmann wird das Buch mit Nutzen zur Hand nehmen, um Kenntnisse aufzufrischen und besonders um sich über die jüngste, auf manchen Gebieten der Forstpathologie geradezu stürmisch verlaufende Entwicklung wissenschaftlicher Erkenntnis wie praktischer Schutzmöglichkeiten zu unterrichten. Dem Phytopathologen, dem Botaniker und Zoologen, dem Chemiker und Bodenkundler wird der „Grundriß" einen willkommenen Einblick in ein wichtiges Nachbargebiet geben.

Nematoden der Kulturpflanzen Europas

Von Dr. H. GOFFART

Regierungsrat
Leiter des Instituts für Hackfruchtbau der Biologischen Bundesanstalt Münster i. W.

144 Seiten mit 91 Textabbildungen. Ganzleinen geb. 18.— DM

Die Kenntnis von den pflanzenparasitischen Nematoden hat im Laufe der letzten Jahrzehnte einen gewaltigen Aufschwung genommen. Die vorliegende interessante Neuerscheinung gibt hervorragende Möglichkeiten, sich über den Stand der Forschung auf diesem Gebiet zu informieren. Dem Phytopathologen wie dem Botaniker, dem Zoologen und Bodenkundler wird ein ausgezeichneter Einblick in ein wichtiges Teilgebiet der angewandten Wissenschaft vermittelt.

VERLAG PAUL PAREY

Zwei wertvolle Neuerscheinungen:

Gesunder und kranker Boden

Ein praktischer Wegweiser zur Gesunderhaltung des Ackers

Von Prof. Dr. F. SEKERA

Bodenbiologisches Institut Wien

3. neubearbeitete Auflage. 95 Seiten mit 39 Textabbildungen. Kart. 5.80 DM

Ausgehend von der Pionierarbeit J. Görbings bringt der Autor in der vollständig neubearbeiteten Auflage seines Buches viel Neues aus seiner eigenen Forschungsarbeit und gibt uns einen anschaulichen Querschnitt des heutigen Wissens um die Erhaltung der Bodenfruchtbarkeit. Hier spricht ein mit der Praxis eng verbundener Wissenschaftler und vermittelt uns Einblicke in den Boden, die bisher nur der Forscher hatte. Er verhilft dem Landwirt dazu, seinen eigenen Acker zu beobachten, seine Naturgesetze zu verstehen und als Techniker verwaltend einzugreifen. Natur und Technik werden eins! Wie beide einander helfen müssen, um die Bodengare wieder zu gewinnen und dauernd zu erhalten, wird an Hand sorgfältig ausgewählter Bilder mit einfachen Worten jedermann verständlich. Im Sinne des vom Autor im Jahre 1943 begründeten Bodengesundheitsdienstes bedeutet dieses Buch zweifellos einen weiteren Aufbau und Fortschritt.

Die Praxis der Pflanzenzüchtung

auf wissenschaftlicher Grundlage für Pflanzenzüchter, Studierende, Landwirte und Gärtner

Von Prof. Dr. FRANZ FRIMMEL

160 Seiten mit 13 Abbildungen. Halbl. geb. 12.— DM

Der Verfasser vermittelt mit dieser bedeutsamen Neuerscheinung aus seinen 30jährigen Erfahrungen als Wissenschaftler und Praktiker eine umfassende biologische Schulung. In der Einleitung bezeichnet der Verfasser die moderne Pflanzenzüchtung, die sich als auswählende Tätigkeit des Menschen mit scharfer Zielsetzung und methodisch durchgearbeiteter Fertigkeit entwickelt hat, als Treuhänder der Symbiose zwischen Mensch und Kulturpflanze, der das wichtigste natürliche Fundament der gesamten zivilisatorischen Entwicklung zu betreuen hat. Im ersten Hauptteil behandelt er die allgemeine Züchtungslehre, während der zweite spezielle Teil sich mit den einzelnen Arten der Selbstbefruchter der vegetativ vermehrten Pflanzen und der Fremdbefruchter befaßt.

Als allgemein interessierend empfehlen wir:

Entwicklung und Probleme neuzeitlicher Pflanzenzüchtung

Mendel oder Lyssenko

Von Dr. HERMANN KUCKUCK

Professor der Pflanzenzüchtung

76 Seiten. Kart. 6.80 DM

Der Autor, einer der ganz wenigen deutschen Wissenschaftler, der das Werk des Professors Lyssenko „Agro-Biologie“ nicht nur gelesen, sondern kritisch durchgearbeitet hat und deswegen wie wenige Wissenschaftler berufen ist, zu dem Thema „Mendel oder Lyssenko“ das Wort zu ergreifen, bringt mit dieser weiteste Kreise interessierenden Schrift eine sachliche Gegenüberstellung der Mendelschen Spaltungsgesetze und der nach ihnen arbeitenden modernen Pflanzenzüchtung einerseits und der „Lyssenko- oder Mitschurin-Biologie“ andererseits. Er rückt damit die Diskussion um dieses in die Sphäre der Politik gezerrte Thema in das helle Licht sachlich-wissenschaftlicher Auseinandersetzung.

VERLAG PAUL PAREY

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstraße 44—47 (West-Berlin). Herausgeber: Prof. Dr. G. Gassner, (20b) Braunschweig, Humboldtstraße 1 und Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2. Printed in Germany. Genehmigungsnummer: KB/Z018. Erscheinungsweise: Jährlich 6 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

BAND 18, HEFT 4 FEBRUAR 1952

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Appel-Berlin, Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller, z. Zt. Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. **G. Gassner** und Prof. Dr. **E. Gäumann**
Braunschweig Zürich

Mit 34 Abbildungen

1952
PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 18, **Heft 4,** *S. 365—464, Berlin 1952*

INHALT

Abhandlungen

STAPP, C. und FRETER, R., Untersuchungen über die Wirkung von 2,4 D im Boden. 1. Mitteilung. (Mit 3 Abb.) 365

STALDER, L., Über Dispositionsverschiebungen bei der Bildung von Wurzelknöllchen. (Mit 8 Abb.) 376

GÄUMANN, E., KERN, H. und SAUTHOFF, W., Untersuchungen über zwei Welketoxine. (Mit 8 Abb.) 404

AMMANN, A., Über die Bildung von Zellulase bei pathogenen Mikroorganismen. (Mit 6 Abb.) 416

KANNGIESSER, W., Polarographische und papierelektrophoretische Charakterisierung von Kartoffelproteinen in ihrer Beziehung zu Kartoffelvirosen. (Mit 9 Abb.) 447

HASSEBRAUK, K., Untersuchungen über die Einwirkung von Sulfonamiden und Sulfonen auf Getreideroste. II. 453

Besprechungen 461

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.
Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 6 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Bogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 2,75 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich.
Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 18,80 DM **Einzelpreis 19,80 DM**

Als Doppelheft (Nr. 1/2) des 33. Bandes der „Zeitschrift für angewandte Entomologie" erschien:

Probleme der angewandten Entomologie

Festschrift der „Zeitschrift für angewandte Entomologie" zum 80. Geburtstag von Geheimrat Professor Dr. K. ESCHERICH

herausgegeben von Dr. W. ZWÖLFER
o. ö. Professor für angewandte Zoologie an der Universität München

370. S. m. 80 Abb. u. 1 Farbtafel

Abonnementspreis 58,— DM, Einzelpreis 64,— DM

Inhalt:

KARL ESCHERICH zum 80. Geburtstag

Einiges über Charakterarten der Käferbestände an Fichten von verschiedener Beschaffenheit. Von U. SAALAS.

Über Krankheitsbegriff, Disposition u. Vorbeugung im Forstschutz. Von E. SCHIMITSCHEK.

Die Schlupfwespen und der Unterwuchs des Waldes. Von J. GYÖRFI.

Zur Frage der Regulierung der Insekten-Populationsdichte durch räuberische Tierarten. Von A. D. VOUTE.

Die Eigenart der Honigbiene (Apis mellifica L.) Von E. ZANDER.

Der Schwarmflug von Reticulitermes lucifugus Rossi. Von A. HERFS.

Anlage einer Station zur Massenzucht von Königinnen der Kleinen Roten Waldameise. Von K. GÖSSWALD.

Über eine Milbenschädigung der Roßameise (Camponotus herculeanus), die durch eine Fehlreaktion des Wirtes wirksam wird. Von A. HÖLLDOBLER.

The role of symbiosis in the genus Coriococcus, Coccidae. Von S. MAHDIHASSAN.

Zur Lebensweise der Nadelholz-Diaspidinae (Homoptera, Coccoidea, Diaspididae, Diaspidinae) und ihrer Parasiten in den Nadelwäldern Frankens. Von H. SCHMUTTERER.

San José-Schildlaus im Weinbau. Von F. ZWEIGELT.

Die Nahrung der Myiasis-Fliegenlarven auf dem Wollschaf. Von O. G. H. FIEDLER.

Einige physiologische Beziehungen zwischen Syrphidenlarven und ihren Parasiten. Von F. SCHNEIDER.

Temperatur und Feuchtigkeit als Faktoren der Lebensdauer überwinternder Larven des Zünslers Pyrausta nubilalis Hübn. und Thigmotaxis, Phototaxis und Hygrophilie als ökologische Faktoren. Von K. TH. ANDERSEN.

Über karnivore Elateridenlarven und ihre Bedeutung im Pflanzenschutz. Von K. FRIEDERICHS.

Erhebungen über das Vorkommen und den Schaden der Holzschädlinge in Wohnhäusern in Südschweden. Von V. BUTOVITSCH.

Ausdehnung und Ablauf der Dendroctonus-Kalamität in Guatemala. Von G. BECKER.

Die Nährpflanzen der Samenkäfer. Von F. ZACHER.

Zur Kenntnis der Hyperparasiten von Pieris brassicae L. Von H. BLUNCK.

Fortschritte und Probleme auf dem Gebiet der Insektenviren. Von G. BERGOLD.

Die Symptome vom Standpunkt des Parasiten. Von E. MARTINI.

Erfahrungen mit der kommunal gelenkten Wanzenbekämpfung in Berlin. Von H. KEMPER und G. HABENICHT.

Untersuchungen über ein neues, gegen resistente Musca domestica L. wirksames Insektizid. Von R. WIESMANN und C. KOCHER.

Das Gamma-Hexachlorcyclohexan im Forst. Von E. HEIDENREICH.

Zur Kenntnis neuer Insektizide auf Grundlage organischer Phosphorverbindungen. Von G. SCHRADER.

Erfahrungen mit organischen Insektiziden in der Bekämpfung von Baumwollschädlingen in Peru. Von J. E. WILLE.

Die Gefährdung der Bienen durch den Pflanzenschutz. Von F. K. BÖTTCHER.

Nonnenbekämpfung mit neuzeitlichen Mitteln. Von F. GROSCHKE.

VERLAG PAUL PAREY

BERLIN SW 68 (WESTBERLIN) LINDENSTR. 44/47

Die Biologische Zentralanstalt für Land- und Forstwirtschaft

BERLIN-DAHLEM

gibt als Fortsetzung der „Mitteilungen aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem" seit 1950 die „Mitteilungen aus der Biologischen Zentralanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem" in Gemeinschaft mit der Biologischen Bundesanstalt in Braunschweig heraus. Es sind bisher erschienen:

Heft 68: MORSTATT, H. — Bücher über Pflanzenpathologie und Pflan
Eine Bibliographie. 52 Seiten. Preis 6,— DM.

Heft 69: GODAN, D. — Über die Wirkung des Rapserdflohlarven-Befalls auf die Rapspflanze. 35 Seiten mit 17 Abbildungen. Preis 4,— DM.

Heft 70: Pflanzenschutztagung der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig in Goslar, 11. bis 14. Oktober 1950. 140 Seiten. Preis 12,— DM.

Heft 71: HEINZE, K. — Die Überträger pflanzlicher Viruskrankheiten (eine tabellarische Übersicht). 126 Seiten. Preis 15,— DM.

Heft 72: HASE, A. — Wollschäden und Dauerschutz der Wolle durch „Eulan"-Behandlung. 56 Seiten mit 14 Abbildungen. Preis 5,— DM.

Die angegebenen Preise gelten ab 1. Januar 1952.

Im Druck sind:

Heft 73: STEUDEL, W. — Untersuchungen zur anholozyklischen Überwinterung der grünen Pfirsichblattlaus *(Myzodes persicae Sulz)* an Brassicaceen.

Heft 74: Pflanzenschutztagung der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig in Würzburg, 23. bis 25. Oktober 1951.

Von den vor 1945 erschienenen Heften der „Mitteilungen" sind noch lieferbar:

Heft 27: Jahresheft des Phänologischen Reichsdienstes für das Jahr 1923. Preis 10,— DM.

Heft 28: desgleichen für das Jahr 1924. Preis 12,50 DM.

Heft 39: SNELL, C., PFUHL und J. VOSS — Sortenstudien bei Weizen und Futterrüben. Preis 7,50 DM.

Heft 42: Berichte und Versuche über Entwicklung und Bau eines Streuapparates für das reichseigene Flugzeug Type Caspar C 32. Preis 1,50 DM.

Heft 45: VOSS, J. — Morphologie und Gruppierung der Weizensorten. Preis 9,— DM.

Heft 47: GOFFART, H. — Über die Nematodenfauna der Kartoffel. Preis 1,80 DM.

Heft 49: BÖRNER, C. und F. A. SCHILDER — Beiträge zur Züchtung reblaus- und mehltaufester Reben. Preis 5,50 DM.

Heft 51: VOSS, J. — Die Unterscheidung der Weizensorten am Korn und im Laboratoriumsversuch. Preis 2,50 DM.

Heft 56: KUNZE, H. A. — Literatur über tropische Nutzpflanzen und deren Krankheiten und Schädlinge. Preis 0,80 DM.

Heft 59: Virusforschung und Viruskrankheiten. Vorträge der Pflanzenschutztagung der Biologischen Reichsanstalt am 2. Februar 1939. Preis 5,— DM.

Im Buchhandel sind die Veröffentlichungen der Biologischen Zentralanstalt, Berlin-Dahlem, nur durch den **Verlag Paul Parey**, Berlin-West (SW 68), Lindenstraße 44-47, zu beziehen.

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstraße 44—47 (West-Berlin). Herausgeber: Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner (20b) Braunschweig, Humboldtstraße 1 und Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2. Printed in Germany. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. Erscheinungsweise: Jährlich 6 Hefte (4 Hefte = 1 Band).